TOME IV : FASCICULE 1 1926-1927

ANNALES

DU

SERVICE BOTANIQUE

DE LA DIRECTION GÉNÉRALE
DE L'AGRICULTURE, DU COMMERCE ET DE LA COLONISATION

DE TUNISIE

TUNIS
SOCIÉTÉ ANONYME DE L'IMPRIMERIE RAPIDE DE TUNIS
5, rue Saint-Charles, 5

1927

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE CYTOLOGIQUE ET TAXINOMIQUE DES BACTÉRIES

PAR

ALBERT PETIT

PLAN DU TRAVAIL

Avant-propos.

PREMIÈRE PARTIE

Historique

I. Travaux tendant à démontrer l'existence chez les Bactéries d'un noyau typique.

II. Travaux ayant trait à l'existence d'un corps central chez les Bactéries.

III. Travaux défendant la théorie d'après laquelle toute la cellule serait constituée par un noyau (noyau ambulant).

IV. Travaux soutenant que la substance bactérienne ne contient pas de substance nucléaire.

V. Travaux soutenant l'existence d'un noyau à l'état diffus.

Technique

I. Observations vitales.

II. Observations après fixation :

a) les fixateurs;
b) les colorants.

III. Réactions spéciales :

a) les corpuscules métachromatiques;
b) le glycogène;
c) granulations graisseuses.

IV. Méthodes tirées de la technique bactériologique.

DEUXIÈME PARTIE

Etude cytologique des diverses espèces

1. *Formes rondes :*

Leuconostoc mesenteroïdes;
Sarcine A;
Coccus B;
Coccus C.

2. *Formes bacillaires ou cocco-bacillaires :*

Bacille A;
Bacille B;

Bacille C;
Bacille D;
Bacille du charbon;
Bacillus subtilis;
Bacille pesteux;
Bacille lactique;
Bacillus aceti;
Cocco-bacille E;
Cocco-bacille F;
Cocco-bacilles G et H, I et J, K;
Autres bacilles (Bacille pyocyanique, Bacille dysentérique).

Résumé des faits observés sur les Bacilles.

3. *Spirilles :*

Vibrion A;
Vibrion B;
Spirille C;
Spirille D;
Spirille E;
Spirochète F.

4. *Corynébactéries et Mycobactéries :*

Bacille diphtérique long;
Bacille diphtérique moyen;
Bacille tuberculeux humain;
Bacille paratuberculeux.

5. *Actinomycètes :*

Discomyces A;
Actinomyces n° 1;
Actinomyces n° 61;
Actinomyces hominis;
Actinomyces bovis;
Actinomyces B;
Cladothrix asteroïdes;
Actinomyces C.

6. *Bactéries filamenteuses :*

Bactérie A;
Bactérie B;
Bactérie C;
Bactérie D;
Bactérie E.

7. *Sulfuraires :*

Beggiatoa alba;
Thiothrix nivea;

Rhabdochromatium, Amœbobacter roseus,
Thiocystis, Thiothece;
Chromatium Okeni.

8. *Oscillospira Guilliermondi.*

9. *Matériel de comparaison.*

Troisième Partie

Résumé, considérations générales et conclusions

I. *Résumé des faits observés :*

Les faits;
Formes d'involution;
La sexualité.

II. *Interprétations* :

A. *Les corpuscules métachromatiques :*

a) Premiers travaux;
b) Signification morphologique;
c) Caractères histochimiques;
d) Rôle physiologique.

B. *Le noyau des Bactéries* :

1) Théorie de la cellule noyau.
2) Théorie de l'existence du noyau typique :
   a) Noyau et corpuscules métachromatiques;
   b) Noyau et cloisons transversales;
   c) Noyau et ébauches de spores;
   d) Cellules ayant un noyau; noyaux insuffisamment décrits.
3) Théorie de l'absence de noyau.
4) Théorie du noyau spiralé.
5) Théorie du corps central.
6) Théorie du noyau diffus ; interprétation de l'auteur.

C. *Le chondriome et le vacuome.*

III. *Considérations taxinomiques.*

IV. *Conclusions.*

Références bibliographiques.

Explication des planches.

AVANT-PROPOS

La structure de la cellule des Bactériacées est encore très mal connue. Deux ordres de circonstances peuvent rendre compte de cette pauvreté de nos connaissances dans ce domaine. D'abord, la cellule bactérienne n'a pas fait, depuis de nombreuses années, l'objet d'études présentant quelque ampleur; les remarquables recherches de GUILLIERMOND, les dernières en date dans la série des travaux d'ensemble poursuivis sur ce sujet, sont de 1907; or, à cette date, les techniques cytologiques ne comportaient pas, à beaucoup près, la précision que l'on s'accorde à reconnaître aux méthodes modernes, et les connaissances générales acquises sur la structure de la cellule, aussi bien chez les Animaux que chez les Végétaux, étaient bien loin d'être aussi complètes qu'elles le sont aujourd'hui, et la Cytologie spéciale des Bactériacées est manifestement solidaire de la Cytologie générale. D'autre part, une circonstance particulière rend l'étude de la cellule des Bactéries spécialement difficile : c'est l'extrême petitesse de ces êtres.

Il pouvait donc sembler utile de rechercher à nouveau, à l'aide de techniques nombreuses et précises, et à la lumière des données récentes de la Cytologie générale, les caractéristiques de la structure intime des Bactériacées. Des types très différents de ces êtres ont été étudiés parallèlement, et la structure de ces formes a été comparée à celle de certains végétaux inférieurs, de position systématique douteuse, paraissant intermédiaires entre les Bactéries et les Algues bleues : *Chromatium*, *Leuconostoc*, *Oscillospira*. Les recherches exposées dans ce Mémoire présentent donc, tant par les méthodes utilisées que par les objets étudiés, un certain caractère de généralité; nous osons espérer qu'elles contribueront utilement à préciser nos connaissances sur la structure des Bactériacées.

Le plan de ce travail sera le suivant : dans un premier chapitre, nous résumerons les diverses théories actuellement en cours pour expliquer la structure de la cellule bactérienne; un deuxième chapitre indiquera les techniques au moyen desquelles ont été réalisées les observations relatées dans ce Mémoire; l'exposé détaillé de ces dernières constituera un troisième chapitre; enfin, dans une quatrième et dernière partie, ces observations seront comparées à celles de nos devanciers et discutées; puis nous conclurons.

Nous tenons à exprimer ici, à notre Maître, M. le Professeur GUILLIERMOND, notre profonde et respectueuse reconnaissance; il est l'inspirateur de ce travail qu'il a guidé, jusqu'à son achèvement,

avec un inlassable dévouement; sans le secours de son exceptionnelle compétence et sans les bienveillantes critiques qu'il a bien voulu ne pas nous ménager, nous n'aurions sans doute pas mené ces recherches à bonne fin; et si des défauts sont reconnus à notre étude, ce n'est certes pas à son influence ou à sa sollicitude qu'il faudra les imputer.

Nous gardons à M. Ch. Nicolle et à M. le Professeur Arloing, qui ont bien voulu nous recevoir longuement dans leur laboratoire, à l'Institut Pasteur de Tunis et à la Faculté de Médecine de Lyon, beaucoup de respectueuse gratitude; les conseils qu'ils nous ont donnés nous ont été précieux.

MM. Mangenot et Eischorn nous ont secondé en des circonstances diverses; nous leur gardons une vive et cordiale reconnaissance ainsi qu'à toutes les personnes qui, soit par l'envoi d'échantillons, soit par d'amicales discussions, nous ont aidé dans notre travail : à MM. Robert Lévy, Burnet, M. Langeron et L. Langeron, Ota, Fernbach, Pallary, Anderson.

A M. Bœuf, chef du Service Botanique d'El Ariana, près Tunis, qui a bien voulu nous permettre de poursuivre nos recherches, nous exprimons notre respectueuse gratitude; nous le remercions très vivement, ainsi que la Direction générale de l'Agriculture, du Commerce et de la Colonisation de la Régence, de vouloir bien accepter notre travail dans les « Annales du Service Botanique ».

Nous sommes très reconnaissant à M. le Professeur M. Caullery de l'honneur qu'il nous fait en acceptant la présidence du Jury de notre thèse.

Enfin, dans une pensée de gratitude affectueuse, nous tenons à rappeler ici la mémoire de J. Chifflot et de notre regretté collègue Catouillard.

PREMIERE PARTIE

HISTORIQUE

On résumera ci-dessous les diverses théories proposées par les auteurs ayant étudié la Cytologie des Bactéries et recherché l'existence d'un noyau chez ces Végétaux. De nombreux cytologistes admettent que la cellule bactérienne renferme, soit un corpuscule comparable à celui des autres êtres vivants, soit un corps central analogue à celui des Cyanophycées. Certains vont même jusqu'à penser que la cellule des Bactéries est tout entière formée de substance nucléaire et ne comporte pas de cytoplasme. D'autres, par contre, soutiennent que le corps bactérien ne présente pas trace de noyau. D'autres cytologistes et bactériologistes, enfin, ont proposé une interprétation intermédiaire : la cellule bactérienne renfermerait de la substance nucléaire diffuse dans le protoplasme, et non concentrée en un noyau différencié.

I. Travaux tendant à démontrer l'existence, chez les Bactéries, d'un noyau typique

Un certain nombre d'auteurs ont admis les premiers cette théorie à la suite de travaux d'importance limitée.

En 1888, SCHOTTELIUS voit des noyaux dans *Bacillus anthracis* : ceux-ci prennent part à la division cellulaire. Peu après (1891), FRENZEL étudie vitalement diverses Bactéries et insiste sur la ressemblance des jeunes spores avec les noyaux. PROTOPOPOFF trouve des noyaux dans un Bacille et un *Actinomyces;* de même WAGER qui est parvenu à distinguer, au moyen de la fuchsine, un noyau entouré d'une membrane. SJÖBRING 1892) colore *Bacillus anthracis* au rouge Magenta et au bleu de méthylène : les granulations situées dans la couche cytoplasmique externe sont rouges; celles de la couche interne, bleues. Ces dernières sont agglomérées en un amas que SJÖBRING considère comme l'équivalent du noyau. En 1893, PODWYSSOZKI, à l'aide de la méthode de ZIEHL, met en évidence dans le Vibrion du choléra une grosse masse de chromatine (noyau) et des grains de nature indéterminée. LÖWIT 1896) trouve un noyau dans diverses Bactéries après coloration par la méthode de LOEFFLER (coloration des cils). ZIEMANN (1898) emploie les mélanges colorants de ROMANOWSKY, après fixation à la flamme ou à l'alcool, et obtient les mêmes résultats que LÖWIT.

Dès 1894, Arthur Meyer publie d'importants travaux sur la structure des Bactéries et soutient d'une manière générale l'existence d'un noyau typique chez ces Végétaux. Après avoir étudié minutieusement la cytologie de *Bacillus asterosporus*, de *B. granulobacter*, de *B. oxalaticus* et de *B. tumescens* (fixation au formol, coloration à la fuchsine phéniquée), il conclut à l'existence d'un noyau chez ces espèces. Ultérieurement, A. Meyer précise ses conclusions par l'examen de plusieurs Bactéries, notamment du *Bacillus Pasteurianus*. Meyer fixe ce microorganisme au liquide de Flemming, le colore à l'hématoxyline ferrique, l'hématoxyline de Delafield, et décèle ainsi, au milieu de la jeune spore, un noyau constitué par une granule chromophile, entouré d'une auréole claire. A. Meyer s'assure, par une série de réactions différentielles sur lesquelles nous reviendrons et dont une des plus importantes consiste dans la décoloration du noyau, teinté au bleu de méthylène, par une solution d'acide sulfurique à 1 % (cette décoloration ne se produit pas avec les corpuscules métachromatiques), que ce granule est bien distinct des corpuscules métachromatiques.

En 1900, Freinberg décrit des noyaux colorables par la méthode de Romanowsky dans le Bacille typhique, *Bacillus coli* et *Bacillus anthracis*. Künstler insiste sur la ressemblance frappante existant entre la première ébauche des spores de certaines Bactériacées (*Bacteriodomonas sporifera*, Künst.) et les noyaux les mieux caractérisés. Künstler et Gineste (1906) trouvent un noyau typique dans *Spirillum periplanetum*. Nakanischi (1901) découvre dans le Bacille de la tuberculose, le Bacille pesteux, le Bacille du charbon *Bacillus megatherium*, des Spirilles, après fixation au formol et coloration au bleu de méthylène, un corpuscule fortement colorable, qu'il considère comme représentant le noyau.

Bohnslav Rayman et Karel Kruis (1903) utilisent un nouveau procédé d'étude. Ils dessèchent les Bacilles (*Bacillus mycoïdes*, *B. oxalaticus*, *B. tumescens*), colorent à l'hématoxyline ferrique et photographient les préparations au grossissement de 3.000.

D'après les photographies obtenues, Kruis et Rayman soutiennent que les Bactéries ont des noyaux: ils auraient observé des diasters dans *Bacillus oxalaticus*. Cependant, les auteurs n'affirment pas si les noyaux se divisent par mitose ou par amitose; ces noyaux ne se rencontrent que dans la partie médiane des cellules longues, tandis que les cellules courtes n'ont que deux, parfois trois grains colorés pariétaux. Certaines cellules possèdent quatre grains; Kruis et Rayman supposent que les deux grains contenus dans d'autres éléments proviennent de la fusion de quatre grains. Plus tard, en utilisant la lumière ultra-violette, ces auteurs confirment ces résultats dans diverses Bactéries : *Bacterium kutzingeanum*, *Beggiatoa alba*, *Crenothrix polyspora*, et un *Micrococcus*.

Vejdovsky (1904) découvre un noyau typique dans le *Bacterium gammari*. Dans les formes du *Bacterium* au repos, le noyau est constitué par une masse de chromatine sphérique homogène, entourée

d'une substance achromatique. A l'état de division, un centriole apparaît à l'un des pôles sous forme d'un grain intensivement colorable à l'hématoxyline. En même temps, le noyau prend la forme d'un fuseau. La division a donc lieu selon un processus rappelant la caryocinèse (fuseau, plaque équatoriale, anaphase). Certains individus contiennent des corpuscules métachromatiques. Vejdovsky a obtenu ces figures après coloration au bleu de Lyon et à l'hématoxyline ferrique. Il constate les mêmes faits dans une Bactérie filamenteuse trouvée dans l'intestin d'une Annélide, *Bryodrilus Elhersi*.

Mencl poursuit les recherches cytologiques commencées par Vejdovsky. Il met en évidence un noyau dans un Bacille trouvé dans *Periplaneta orientalis*. Ce noyau, discoïdal, se clive en deux moitiés ressemblant aux cloisons transversales des cellules en voie de division. Mencl retrouve dans les Bactéries filamenteuses (*Cladothrix*) un noyau polymorphe qui est, soit vésiculeux, soit constitué par un nucléoplasme et deux chromosomes. Certaines cellules renferment quatre noyaux; dans d'autres cas, le noyau est filamenteux ou diffus.

Dans l'étude du *Bacterium gammari*, Mencl (1907) décrit dans la cellule au repos un noyau typique. C'est un élément sphérique ou ellipsoïdal, limité par une membrane nettement définie et renfermant plusieurs (cinq au plus) sphérules colorables, formées de chromatine, de dimensions variables.

Lors de la division nucléaire, deux chromosomes, formés par la condensation des sphérules, se placent diamétralement contre la membrane. En même temps, un « grain central », fortement colorable à l'hématoxyline, situé à l'extérieur du noyau au contact de la membrane, joue un rôle analogue à celui du centriole. Ainsi, on se trouve en présence d'une figure ressemblant à la métaphase d'une caryocinèse typique, mais généralement unipolaire, rarement bipolaire. Mencl décrit incomplètement ces divisions. Il ne précise pas le rôle et la nature des granulations chromophiles des vacuoles et du cytoplasme.

Caullery et Mesnil ont critiqué l'interprétation de Mencl. Ils font observer que la place du *Bacterium gammari* dans la classification n'est pas dans le groupe des Bactéries, mais dans celui des Levures, qui, d'après les travaux de Guilliermond, possèdent un noyau typique. Selon Mencl, *Micrococcus butyricus*, *Sarcina rosea*, *S. lutea* seraient aussi nucléés et présenteraient des phénomènes de fusions nucléaires.

L'étude de Mencl sur l'*Azotobacter chroococcum* est une confirmation de tous ses travaux antérieurs : Mencl colore ce microbe au bleu polychrome de Unna : le cytoplasme est teinté en bleu, le noyau en rouge.

Preicz fixe le Bacille du charbon à l'alcool ou au formol : dans le premier cas, il colore à la fuchsine; dans le second, au bleu de méthylène : il constate des noyaux dont l'un contribue à la formation de la spore; l'épiplasme devenant l'enveloppe de cette dernière. Les corpuscules métachromatiques sont intravacuolaires.

Herxheimer (1905) distingue un noyau dans le corps du *Spirochæte pallida*. Krzystalowicz et Siedlecki fixent à l'acide osmique les différentes formes de *Spirochæte pallida* et colorent celles-ci par la méthode de Marino. Ces auteurs observent au milieu de chaque élément un espace clair qui, d'après eux, serait un noyau. Chez les formes minces, ce dernier n'est pas visible en raison de la petitesse des images.

Swellengrebel (1907) étudie la cytologie du *Bacterium binucleatum*. Il fixe ce microrganisme au formol ou à l'alcool absolu et le colore à l'hématoxyline ferrique ou au Giemsa. Dans ce corps bactérien au repos, il existe deux corpuscules arrondis ou ovoïdes, presque aussi larges que la cellule, et colorables en rouge par le colorant de Giemsa. Des réactions michochimiques ont montré à Swellengrebel que ces corpuscules ne sont ni des globules graisseux, ni des grains de métachromatine, ni de l'amyloïde. L'emploi de divers réactifs de la chromatine n'a pas donné de résultats nets: cependant, lorsque les corps bactériens sont mis en présence de pepsine pendant vingt-quatre heures, Swellengrebel constate que les corpuscules intracellulaires résistent à cette diastase. Quand la cellule se divise, il se forme, à sa partie médiane, une cloison perpendiculaire à son axe; cette cloison sépare les deux cellules sœurs. Pendant l'accomplissement de ce processus, chacun des deux corpuscules offrant les réactions des noyaux est le siège de modifications remarquables : toute la substance colorable qu'il renferme se condense d'un côté de la cellule, l'autre devenant très faiblement colorable: puis, tout cet ensemble se clive : chacune des moitiés des grumeaux chromophiles donne naissance à des granules identiques qui s'écartent rapidement l'un de l'autre. L'aire peu colorable se clive en deux tractus qui se séparent plus vite du côté des grains chromophiles que du côté opposé, processus donnant naissance à des figures en forme de V à branches faiblement teintées et à extrémités intensément colorées. Lorsque les deux tractus se sont complètement séparés et sont devenus parallèles, la substance chromophile les imprègne à nouveau, les gonfle, et ainsi renaissent les deux grains primitifs. Swellengrebel n'hésite pas à considérer ces derniers comme des noyaux.

Vahle (1908) décrit un noyau colorable à la fuchsine dans le *Bacillus stylopigæ* (trouvé dans la blatte) qui est formé par la condensation de granules de chromatine; ce noyau constitue la majeure partie de la jeune spore. Dans les formes binucléées, le noyau se désagrège en granulations.

Amato (1908) étudie plusieurs Bacilles (*Bacillus subtilis*, *B. mycoïdes*, *Spirillum volutans*) au moyen de différentes méthodes de fixation et de coloration. Les cellules jeunes possèdent un gros granule nucléaire se dissociant ultérieurement en grains chromophiles qui se disséminent dans le cytoplasme. Au cours de la sporogénèse, ces grains se fusionnent en un gros globule aux dépens duquel se développe la spore qui renferme le gros grain observé dans toute cellule jeune. *Spirillum volutans* aurait plusieurs spores, d'après Amato.

Cet auteur interprète les résultats divergents des auteurs de la façon suivante : les uns ont observé des Bacilles jeunes, c'est-à-dire des éléments nucléés; les autres ont constaté un système de granulations chromatiques dans des Bactéries plus âgées.

Schussing (1910) fixe à l'acide osmique et colore à l'hématoxyline une Bactérie de grandes dimensions trouvée dans le cæcum de cobaye. Il voit tantôt un noyau se divisant en deux noyaux fils dont l'un émigrera dans la spore, tantôt des granulations chromatiques.

Sangiorgi emploie la méthode à l'encre de Chine de Burri; il observe un noyau dans diverses Bactéries : Bacille typhique, Bacille dysentérique, Bacille pesteux, Bacille pyocyanique, *Bacillus prodigiosus*.

Dobell (1909) se sert d'une technique qui lui aurait permis de différencier les granules de chromatine des corpuscules métachromatiques dans divers microrganismes : une Sarcine trouvée dans l'intestin de *Bufo melanostictus;* des *Micrococci* de l'intestin de *Mabuia carinata;* des Bacilles fusiformes de l'intestin de *Triton vulgaris* et de *Lacerta muralis;* des Spirilles de *Stylopyga orientalis;* enfin, un microrganisme rencontré dans l'intestin du *Boa constrictor*. Il fixe aux vapeurs d'acide osmique, à des liquides osmiés, à l'alcool absolu; il colore au liquide de Giemsa, à celui de Leishman, à l'hématoxyline. Dans toutes les espèces citées, il met en évidence un noyau colorable en rouge par la méthode de Giemsa. Plus tard (1911), Dobell décrit un noyau dans un gros Spirille, *Paraspirillum Vejdovskyi* (large de 1,5 μ), au centre duquel il voit un petit corps brillant sphérique se divisant par amitose comme le noyau des Amibes. La division de ce noyau précède celle de la cellule; le *Paraspirillum* renferme de nombreux corpuscules métachromatiques.

La théorie du noyau a été apparemment renforcée par les études de Holling (1910), sur trois Fusiformes : *Fusiformis termitidis* de l'intestin de termites brésiliens; *F. muris* et *F. dentium*. L'auteur utilise des méthodes cytologiques variées, dont celle préconisée par Hartmann et Muhlens, qui auraient découvert un noyau dans *Bacillus fusiformis*. Chez les éléments jeunes des Fusiformes, Holling voit un cytoplasme homogène et un noyau; les formes âgées ont un cytoplasme alvéolaire et sont multinucléées (certaines cellules renferment jusqu'à 16 noyaux). Le noyau se colore en rouge par la méthode de Romanowsky comme le font les corpuscules métachromatiques.

Johnson (1911) observe un noyau dans toutes les cellules du *Bacillus megatherium*.

Douglas et Diastaso (1912) trouvent un noyau chez un Bacille encapsulé, après fixation aux vapeurs d'acide osmique et coloration au liquide de Giemsa. Le noyau est constitué par un nucléoplasme contenant deux masses de chromatine; il se divise par amitose.

Penau (1912-1915) étudie plusieurs Bactéries : *Bacillus anthracis*, *Bacillus megatherium*, *B. mycoïdes*, *B. Verdunensis*. Il se sert de fixateurs légèrement hypertoniques ou très fortement hypertoniques

(liquides de Perenyi, de Ladowsky). En outre, il colore, soit vitalement ou post-vitalement, au bleu de méthylène et au rouge neutre dilués dans la solution physiologique de chlorure de sodium, soit après fixation, avec l'hématoxyline ferrique-éosine, le violet de gentiane phéniqué, le bleu polychrome de Unna, la safranine anilinée. Il distingue les phases suivantes dans *Bacillus anthracis* et *B. Verdunensis* :

1° Le stade d'indifférenciation, pendant lequel le contenu cellulaire est homogène.

2° Le stade du noyau vésiculeux : ce noyau se forme aux dépens de granulations chromatiques; il est constitué par un caryoplasme et un caryosome.

3° Le stade du noyau plein, caractérisé par l'état homogène de cet élément, qui se divise en deux moitiés séparées par une cloison. Ce stade correspond au maximum de développement cultural. Le protoplasme, qui était jusqu'à présent homogène, se creuse d'alvéoles.

4° Le noyau se résout en un système de granulations chromatiques incluses dans un reticulum. Le cytoplasme est très réduit.

5° Les grains de chromatine se rassemblent à la périphérie de la cellule et constituent aux pôles des amas, aux dépens desquels se formera et se développera l'ébauche de la spore. Au centre de cette dernière, la chromatine se condense en une granulation de même taille que celle des noyaux primitifs qui se rencontrent dans les bâtonnets jeunes.

Dans *Bacillus megatherium*, Penau retrouve le stade d'indifférenciation; puis apparaît le noyau. C'est le début de la phase dite « nucléose et formation basophile condensée ». A côté du noyau, existe une formation basophile formée de granules agglomérés. Le noyau se divise par amitose et ne peut être confondu avec un grain sporogène qui ne se partage jamais. Au troisième stade, appelé par Penau « nucléose et formation basophile diffuse », la formation basophile condensée se dissocie en un ensemble de couples de granulations chromophiles réunies par un fin tractus, tandis que le noyau a les mêmes caractères que pendant le stade précédent. Au cours de la sporogénèse (quatrième stade), le noyau plein, qui ne se divise plus, augmente de volume et constitue la majeure partie de la spore, ainsi que les grains basophiles qui y sont également englobés, tandis que d'autres restent inutilisés dans un épiplasme.

Chez le *Bacillus mycoïdes*, la formation basophile est peu distincte du noyau vésiculeux (reticulum nucléaire).

En résumé, Penau décèle dans le *Bacillus mycoïdes* un noyau transitoire auquel fait suite une formation basophile issue de ce noyau. Dans un *deuxième cas* (*Bacillus anthracis*, *B. verdunensis*), le noyau dense est constitué par un reticulum renfermant des granulations chromatiques qui se condenseront et formeront l'ébauche de la spore. Le *troisième type* (*Bacillus megatherium*) se distingue des

précédents par la coexistence de la formation basophile et du noyau qui donne ultérieurement naissance à la spore.

Penau assimile le reticulum basophile à un organisme de régularisation permettant au noyau de se débarrasser d'une partie de la chromatine (théorie d'Hertwig).

Prazmowsky (1912) découvre dans les Bactéries diverses (*Bacillus*, *Bacterium*, *Azotobacter*, *Streptococcus*) un noyau typique qui se divise par formation d'une haltère et séparation de deux sphérules; ce processus représente un mode de division primitif. L'*Azotobacter chrococcum* possède plusieurs noyaux se fusionnant avant la sporulation, puis se résolvant en granulations. Les noyaux ne s'observent donc qu'avant la sporulation; ils sont parfois expulsés des cellules et sont susceptibles de se diviser et de former de nouveaux individus. Pour Prazmowsky, la vie végétative des Bactéries serait caractérisée par la présence d'un noyau condensé; la sporulation, par l'existence d'un noyau diffus.

Nello Mori (1913) étudie la cytologie de plusieurs espèces, dont le *Corynebacterium equi*, dans lequel il colore au bleu de méthylène, à la fuchsine phéniquée, au bleu boraté, un noyau de forme cylindrique. Celui-ci ne se voit que lorsque la Bactérie est cultivée sur des milieux maltosés ou mannités. Nello Mori affirme que *Bacillus coli*, *B. pyocyaneus*, *B. pseudo- anthracis* et *B. radiciformis* sont nucléés.

Dreschler (1919) constate que les Actinomycètes ont un vrai mycelium cloisonné, dans les cellules duquel il décèle des noyaux et des corpuscules métachromatiques. Les spores sont nucléées.

Paillot (1922) étudie des Bacilles isolés du sang des Insectes. Selon cet auteur, *Bacillus non liquefaciens* est pourvu d'un noyau différencié qui consiste en deux doubles grains chromatiques. Chez une autre espèce, *Bacillus haplosternus*, le noyau vésiculeux donne naissance, par divisions successives se produisant par allongement en haltère et séparation des deux masses, à une série de noyaux fils, soit au moyen du colorant de Giemsa, soit par coloration post-vitale au bleu de méthylène. Il constate, dans les corps cellulaires, la présence de noyaux doubles fortement teintés en bleu. Chez *Diplococcus bombycis*, l'équivalent du noyau est formé de doubles bandes chromophiles. Paillot montre l'existence d'un noyau plus ou moins allongé chez *Bacillus lymantricola*. Il homologue les granulations concentrées des formes d'involution à des noyaux; il conclut : « la cellule bactérienne est pourvue d'un système nucléaire différencié, caractérisé, comme le noyau des cellules ordinaires, par la présence de chromatine. Morphologiquement, il n'existe aucun rapport entre les deux noyaux, celui de la cellule bactérienne est caractérisé par sa très grande plasticité. Parmi les formes d'arrangement possibles de la chromatine, il en est une qui paraît se reproduire plus fréquemment que toute autre, c'est la disposition en bandes transversales; celles-ci sont généralement groupées par paires ». Dans un travail ultérieur, Paillot décrit des plaques nucléaires transversales dans les jeunes cellules du *Bacillus neurotomæ;* il n'hésite pas à les

nommer diplocaryons. Les cellules adultes peuvent renfermer plusieurs diplocaryons.

Kirchensteins (1922) expose ses recherches relatives à des espèces bien différentes. Chez les *Cocci*, Kirchensteins voit un grain central (noyau) susceptible de se diviser. Les Bacilles courts (comme *Bacillus coli*) renferment des noyaux pouvant se partager successivement à deux reprises. Il retrouve un noyau dans d'autres espèces : des Pasteurelles, *Bacillus paratyphi*, *B. hipolaris*, *B. equi-septicus*, Bacille du pus bleu, *Bacillus fluorescens liquefaciens*, des Vibrions. Il décrit en détail les mitoses du noyau d'un Spirochète isolé des narines d'un cheval. Les grains chromatiques se disposent en une plaque équatoriale se scindant en deux masses chromatiques. Kirchensteins consacre une étude spéciale au Bacille tuberculeux.

Le Bacille de Koch présente parfois des granulations colorables, latérales (granulations de Much) qui peuvent sortir de la cellule et être l'origine de nouvelles souches. Il ne considère pas ces granulations comme des spores, mais il les identifie aux corpuscules métachromatiques de Babès et de Ernst et aux granulations de chromatine. Il aurait observé des fusions de noyaux avant la division cellulaire. Ces formations nucléaires correspondent aux noyaux spiriformes décrits par Swellengrebel dans le *Bacterium binucleatum*. Des produits de réserve existent à l'état diffus dans la cellule.

Gustein (1925) décrit deux noyaux dans diverses Bactéries; un gros noyau semblable à celui des Amibes (*macronucleus*), constitué de protéines et de phosphatides, et un granule plus petit se colorant par la méthode de Gram (*micronucleus*).

Pour Bessuletz (1925), *Bacillus anthracis*, *B. pseudo-anthracis*, *B. subtilis*, *B. suipesticus*, les Sarcines possèdent un noyau analogue à celui des cellules nucléées.

Schumacher (1926) affirme que les Bactéries ont un noyau, mais que celui-ci est parfois masqué (quand on colore) par les substances nucléoprotéiques du cytoplasme.

Dans un grand nombre de cas, le noyau constaté par les auteurs n'est visible que pendant une partie de l'évolution des Bactéries.

II. Travaux ayant trait à l'existence d'un corps central chez les Bactéries

Bütschli (1890) étudie la cytologie de diverses espèces de grandes dimensions : *Beggiatoa alba*, *B. media*, *Chromatium Okeni*, *Ophidomonas javanensis*, *Bacterium lineola*, *Spirochæte serpens*, différentes Bactéries trouvées dans l'eau de marais; des Oscillaires, des Nostocs et une Euglène. Bütschli emploie des méthodes variées : exposition aux vapeurs d'acide osmique, fixation à l'alcool; il utilise, pour les colorations, le carmin aluné, le carmin ammoniacal, le vert de méthyle, le safranine, l'hématoxyline, le violet de gentiane et le bleu de méthylène.

Bütschli différencie, par ces moyens, une zone centrale plus chromophile occupant la presque totalité de la cellule. Cette partie centrale est constituée par un reticulum contenant dans ses mailles des « grains rouges » que Bütschli considère comme des grains de chromatine. La membrane n'est pas de nature cellulosique.

Chez les espèces de petites dimensions (*Spirillum undula*), le corps central occupe toute la cellule.

Trambüsti et Galeotti (1892) observent au centre du corps de divers Bacilles (*Bacillus subtilis*, *B. megatherium*) un reticulum de linine renfermant des granulations de chromatine qui prennent part à la formation de la spore. Ils concluent, comme Bütschli, que les Bactéries possèdent un corps central.

Schewiakoff (1893) découvre dans un très grand Bacille, l'*Achromatium oxaliferum*, un corps central alvéolé avec des grains retenant les colorants basiques; ces grains se colorent par le réactif de Millon; ils résistent à l'action du suc gastrique; ils n'ont pas les caractères des substances graisseuses. Le corps central est relié à la paroi cellulaire par de fins tractus cytoplasmiques régulièrement espacés.

Mitrophanow 1895) traite par une solution de bleu de méthylène divers microorganismes (*Rhabdochromatium*, *Ophidomonas*, *Beggiatoa*, *Cladothrix*) et fixe la coloration par une solution aqueuse de sublimé à 0,75 %. Il différencie une zone centrale colorée en bleu dans *Rhabdochromatium; Ophidomonas* possède un filament central colorable en rouge dans les mêmes conditions.

P. A. Dangeard (1909) étudie le *Chromatium Okeni*. Après avoir fixé au liquide de Perenyi, à celui de Flemming, et coloré à l'hématoxyline, à la méthode de Flemming, il établit, surtout avec cette dernière méthode, que la zone centrale (corps central) a des caractères de chromaticité bien différents de ceux de la zone périphérique (cytoplasme) : le corps central, dépourvu de membrane, reste coloré par la safranine, alors que le cytoplasme est teinté par le violet de gentiane. La division cellulaire est directe. P. A. Dangeard est parvenu à localiser un corpuscule basophile à la base du flagelle, lequel est en relation avec le corps central par l'intermédiaire d'un filet chromatique. Par ce caractère, le *Chromatium* ressemble aux Flagellés, dont il dériverait. Dans les autres Bactéries qui, selon Dangeard, descendraient aussi des Flagellés, le corps central serait désagrégé et n'existerait plus qu'à l'état de granulations dont l'ensemble constitue un noyau diffus.

Swellengrebel (1910) pense découvrir un corps central chez une Bactérie filamenteuse, *Calothrix fusca*. Il fixe celle-ci au liquide de Pfeiffer et colore à l'hématoxyline des coupes à la paraffine; il se sert aussi de frottis humides. Le cytoplasme (périphérique) des cellules jeunes est alvéolaire. Le corps central, situé en général dans la partie médiane de la cellule, est constitué par un substratum achromatique (dont les tractus se relient à ceux du cytoplasme) se colorant plus intensément que ce dernier et contenant des inclusions sidéro

philes (chromatine) qui ne sont pas nettement délimitées. Cependant, chez certains individus, l'auteur ne distingue pas le substratum achromatique du cytoplasme; les granulations sidérophiles sont disséminées dans la cellule : une telle structure est semblable à celle que possèdent plusieurs Bactéries, étudiées par Dobell. La dislocation du corps central est réalisée par la pénétration dans ce dernier d'inclusions hyalines, colorables par la fuchsine phéniquée. La division cellulaire est directe, celle du corps central a lieu par simple fissuration.

Récemment (1924), Boris de Petschenko reprend l'étude du *Chromatium Okeni*, objet des précédentes recherches de Bütschli et de P. A. Dangeard. Ses conclusions se rapprochent de celles de ces auteurs. *In vivo*, il observe des granulations diverses. Après *fixation*, il distingue autour du corps bacillaire deux couches membraneuses dont l'une, très chromophile, paraît être de nature mucilagineuse; un cytoplasme, un noyau polymorphe disséminé dans ce dernier; un appareil plastidiaire et un appareil locomoteur. Le *noyau* est constitué, soit par des éléments ténus presque microscopiques, soit par des granulations chromatiques individualisées, ou par des plaques homogènes, soit enfin par un corps central constitué par des granulations chromatiques situées dans un substratum peu chromophile. Le noyau granuleux se rencontre dans les cellules végétatives; le corps central caractérise les cellules génératrices. La division du noyau est amitotique. L'*appareil plastidiaire* est formé, soit par des mitochondries, soit par des chromatophores; ces éléments contiennent les uns et les autres de la bactériopurpurine. Les chromatophores vésiculeux se colorent par la méthode de Benda; ils renferment à leur périphérie des granulations osmio-réductrices émigrant dans le cytoplasme. L'auteur signale en outre des grains de métachromatine. Le *flagelle*, formé de fibrilles, a pour origine un blépharoplaste. De Petschenko conclut comme P. A. Dangeard que le *Chromatium Okeni* doit être rapproché des Flagellés.

III. Travaux défendant la théorie d'après laquelle toute la cellule bactérienne serait constituée par un noyau (noyau ambulant)

Hueppe (1886) émet l'opinion que le noyau n'étant pas visible dans la cellule bactérienne; celle-ci serait en réalité un noyau libre.

Künstler (1887), se basant sur la chromophilie des Bactéries, admet que celles-ci sont des « noyaux ambulants ». On pourrait aussi citer parmi les adeptes de cette théorie Bütschli, d'après lequel le corps central occuperait toute la cellule dans les petites espèces.

Zettnow (1891) confirme l'opinion de Bütschli. Ultérieurement (1887-1899), soit après coloration vitale au bleu de méthylène, soit après fixation à la flamme et coloration par la méthode de Roma-

Nowsky, il conclut à la nature nucléaire de la cellule bactérienne. Künstler (1900) et Zettnow ont, depuis, abandonné cette opinion.

Ruzicka (1907) fixe dans les solutions aqueuses de sublimé différents Bacilles et les colore au bleu de méthylène; il décèle des granulations chromatiques, disséminées dans un reticulum, et qui résistent à l'action du suc gastrique; tout cet ensemble constitue un noyau.

Ambroz (1909) observe dans le *Bacillus nitri* des grains épars, colorables au bleu de méthylène et au liquide de Giemsa. La spore naît, soit sous forme d'une tache polaire diffuse, soit sous forme d'un granule qui grossit. Ambroz adopte l'hypothèse de la cellule noyau.

IV. Travaux soutenant que la cellule bactérienne ne contient pas de substance nucléaire

De Bary et Zopf (1884-1885), ne pouvant discerner de noyau dans les Bactéries, admettent que celles-ci n'ont pas de noyau.

Migula (1894) constate que certains Bacilles (*Bacillus oxalaticus*) ne sont formés que de protoplasme contenant des granulations inattaquables à la pepsine.

Pour Massart (1902), les Bactéries ne renferment que du cytoplasme et des grains de sécrétion.

Fischer (1904) montre que Bütschli a décrit des figures de plasmolyse; il nie l'existence du corps central. Les granulations observées par différents auteurs sont des substances de réserve qui n'ont aucun rapport morphologique avec la chromatine. Les Bactéries ne contiennent pas de noyau.

V. Travaux soutenant l'existence d'un noyau à l'état diffus

Pour Weigert (1887), le noyau des Bactéries est diffus; il est à l'état de granulations répandues dans le cytoplasme.

Mac Callum (1899) différencie dans des Bactéries sulfureuses (*Beggiatoa*) des granulations chromatiques dans le reticulum cytoplasmique.

Hinze (1901) étudie des Bactéries de grandes dimensions (*Beggiatoa*, *Thiophysa volutans*); il fixe ces espèces au liquide de Flemming et les colore à l'hématoxyline ferrique. Hinze obtient les mêmes résultats que Mac Callum, et il interprète ceux-ci de la même façon que cet auteur.

Les travaux de Schaudinn (1902) sont très importants pour la théorie du noyau diffus; ils ont suscité un grand nombre de recherches.

Schaudinn étudie un bacille de grandes dimensions, le *Bacillus Bütschlii* (4 μ de diamètre), afin de confirmer les travaux de Bütschli sur la structure alvéolaire de la cellule. Ses colorations vi-

tales au bleu de méthylène n'ont pas donné de résultats appréciables. Schaudinn fixe aux vapeurs d'acide osmique, au sublimé alcoolique (2 parties de sublimé dissous à saturation dans l'eau, 1 partie d'alcool), au liquide de Hermann (à base de platine et d'acide osmique), à des liquides contenant de l'acide picrique. Il colore à l'hématoxyline ferrique, à l'hématoxyline de Delafield, à l'hémalun de Mayer, au carmin boraté, à la fuchsine, au violet de gentiane, au bleu de méthylène avec ou sans éosine. Il se sert de l'alcool absolu pour plasmolyser la cellule.

Les cils, très nombreux, sont disposés tout autour du corps cellulaire et semblent être issus d'une substance périphérique entourant la membrane; cette dernière ne donne pas les réactions de la cellulose, mais elle se colore en jaune par l'iode et en rouge par le réactif de Millon : elle reste inattaquée au contact de la pepsine; elle se dissout dans les solutions concentrées d'acides et d'alcalis. La membrane paraît être de nature albuminoïde. Schaudinn distingue dans la membrane des parties plus chromophiles. Le reticulum cytoplasmique est plus lâche dans sa partie périphérique; à ce niveau, les filets sont perpendiculaires à la paroi. Chaque nœud des mailles cytoplasmiques possède une granulation chromatique se colorant comme le noyau des Protozoaires et celui des cellules végétales. L'ensemble des granulations chromatiques constituerait le noyau.

Au début de la division cellulaire, un granule chromophile apparaît au centre de la cellule. Ce granule devient un corps lenticulaire qui, par accroissement, atteint la paroi; c'est alors un disque bombé, se clivant et libérant l'une de l'autre les deux cellules sœurs.

Les granulations chromatiques conservent les mêmes caractères au début de la sporulation qui marque la fin de la vie végétative. La sporulation est précédée, selon Schaudinn, d'une véritable fécondation : chez l'individu qui sporulera, une cloison transversale se forme en son milieu selon le processus précédemment décrit, le partageant en deux moitiés égales; puis, cette cloison se résorbe : il en résulte un mélange des cytoplasmes et des granulations chromatiques et, par suite, une véritable fécondation autogamique. Schaudinn constate, qu'après la disparition de la cloison transversale, les granulations chromatiques sont beaucoup plus grosses; celles-ci, après avoir repris leur taille normale, se concentrent dans la région axiale de la cellule suivant une ligne sinueuse ou hélicoïdale, puis elles émigrent à chaque pôle, y constituant des amas sphériques donnant naissance à la spore qui serait formée en majeure partie par de la chromatine.

Les cellules issues de la germination ressemblent aux cellules adultes, mais elles possèdent, en outre, à chaque pôle, un granule chromatique qui disparaît ultérieurement.

En résumé, Schaudinn s'appuie sur la disparition de la cloison transversale et sur le grossissement ultérieur des granulations pour soutenir l'existence chez *Bacillus Bütschlii* d'une conjugaison autogamique. Il se base sur l'accumulation des grains dans la spore, sur

la chromaticité de ceux-ci, pour envisager l'hypothèse de leur nature chromatique.

Schaudinn constate un second cas d'autogamie dans une autre Bactérie, *Bacillus sporonema* (1,5-2 μ de diamètre), dont le cytoplasme alvéolaire contient des granulations assez chromophiles, mais qui n'ont pas les propriétés de la chromatine, car elles se teintent tantôt en rouge, tantôt en bleu-violet par l'hématoxyline et le colorant de Romanowsky; d'autre part, la disposition de ces granulations, leur forme et leur nombre sont variables. Comme chez le *Bacillus Bütschlii*, Schaudinn observe que la sporulation est précédée d'un début de division cellulaire restant inachevée. Il admet encore qu'il s'agit d'un cas de sexualité autogamique. La spore est issue, à l'origine, d'un granule situé au milieu de la cellule.

Pour Perrin (1906), *Spirochæte Balbianii* a un noyau spiralé, filamenteux, s'étendant d'une extrémité à l'autre de la cellule. Pendant la division cellulaire, le noyau se segmente en de nombreuses granulations. Après la division, la spirale chromatique se reconstitue.

Swellengrebel (1906) décrit une Bactérie de la bouche de l'homme, *Bacillus maximus buccalis*. Il emploie la technique de Schaudinn (coloration à l'hématoxyline et au Giemsa). Le noyau est une spirale tantôt uniforme, tantôt il présente des renflements réunis par des tractus (bandes chromatiques transversales); le noyau se scinde longitudinalement en deux moitiés émigrant chacune dans chaque cellule sœur. La cloison transversale chromophile persiste chez les individus n'ayant plus de cytoplasme et ne peut pas être assimilée à un noyau. Swellengrebel étend ses recherches aux gros Spirilles : *Sp. giganteum*, *Sp. Balbianii*. Les Spirilles ont une membrane bien nette; la division est transversale; le noyau consiste en un filament chromatique spiralé. A la base des cils, l'auteur découvre un granule chromatique. Enfin, Swellengrebel est parvenu, le premier, à plasmolyser des Spirochètes. En 1908, il reconnaît que les grains chromatiques ont été confondus avec les corpuscules métachromatiques. Holling (1908) affirme que les figures observées par Swellengrebel sont dues, soit à des phénomènes de plasmolyse, soit à l'état de dégénérescence des cellules. Swellengrebel fait remarquer que la plasmolyse détermine la formation de boules et non celle de spirales, et que, d'autre part, la spire chromatique ne se rencontre que chez les formes jeunes. Zettnow critique Swellengrebel au sujet du *Spirillum volutans;* il emploie la même technique que cet auteur (fixation au formol, coloration à l'hématoxyline); il ne retrouve pas le noyau spiralé.

En 1909, Swellengrebel recherche le noyau de plusieurs Bactéries filamenteuses : *Sphærotilus natans*, *Thiothrix nivea*, *Th. tenuis*. Il décèle, dans la première espèce, soit un filament chromatique axial, soit des filaments perpendiculaires à l'axe donnant un aspect spiralé au contenu cellulaire, soit des granulations chromatiques éparses dans le cytoplasme. Chez *Thiothrix nivea*, Swellengrebel constate

deux masses de chromatine qui ont une certaine ressemblance avec des noyaux.

Swellengrebel (1913) étudie la cytologie du *Bacterium deliense;* il fixe ce microbe à l'alcool et le colore par la méthode de Giemsa. Il suppose que le contenu cellulaire est constitué par deux substances : l'une se colorant en bleu par le liquide de Giemsa, l'autre de nature chromatique se teintant en rouge par ce colorant. La chromatine existe à l'état diffus sous forme de granulations prenant part, plus tard, à la formation de la spore. La sporogénèse débute par l'accumulation de granulations chromatiques disposées en une figure ressemblant à un filament, et en une grosse masse cyanophile située au pôle; tout cet ensemble constitue l'ébauche de la spore. Comme la division cellulaire ne s'effectue pas, Swellengrebel pense que la sporulation serait précédée d'une fusion des deux substances, qui présentent à ce moment leur maximum de différenciation. La substance cyanophile est spécialisée dans les fonctions locomotrices et reproductrices; elle participe à la division cellulaire (la cloison transversale est formée de chromatine: les cils sont en relation chez les Spirilles avec des grains chromatiques), tandis que la substance achromatique préside aux phénomènes nutritifs.

Swellengrebel a hiérarchisé les différentes structures nucléaires qu'il rencontre : le degré le moins perfectionné est celui du noyau diffus; le filament spiralé existe dans les espèces moins primitives (Spirilles); enfin, la structure nucléaire la plus différenciée est représentée par un noyau (*Bacterium binucleatum*).

Pour Gonder (1908), la partie chromatique du *Spirochæte pinnæ* (trouvé dans la tige cristalline de mollusques, *Pinna squamosa* ou *P. mobilis*) comprend un long bâtonnet axial ou des granulations réparties en général le long du corps, parfois réunies par groupes de quatre. Gonder aurait en outre constaté une membrane ondulante très nette et un blépharoplaste.

Fantham (1908) publie un mémoire sur les grands Spirilles (*Spirochæte Balbianii* et *Sp. anodontæ*). Il fixe aux vapeurs de l'acide osmique et il colore au violet de gentiane ainsi qu'à l'hématoxyline ferrique. Il met en évidence dans toute la membrane, qui renferme une substance chitinoïde, des fibrilles longitudinales. Le noyau est constitué par une bande spiralée achromatique portant des amas transversaux de chromatine. La division est longitudinale, rarement transversale. Fantham rapproche les Spirochètes des Trypanosomes. Il observe ultérieurement (1911) une structure analogue dans un Spirochète du sang (*Sp. duttoni*) qui, lui aussi, se divise transversalement et longitudinalement. Cet auteur aurait vu, de plus, des formes granulaires de ce Spirochète qui sont considérées par Chatton comme des formes de dégénérescence.

Guilliermond résume (1908) ses travaux dans un mémoire important sur les Bacilles endosporés et les Spirilles. Cette minutieuse étude a été faite au moyen de nombreuses méthodes de fixation et de coloration : l'auteur s'est servi du liquide de Ladowsky, du picrofor-

mol, du formol à 40 %, du liquide de Lenhossek, de ceux de Tellienizcky, de Zenker et de Perenyi; il colore au bleu de méthylène, de crésyl, dé toluidine, de Unna, à la thionine, à l'hémalun, à l'hématoxyline ferrique et cuprique, au bleu de Borrel et au liquide de Giemsa. Il précise la structure de plusieurs Bacilles : *Bacillus mycoïdes*, *B. megatherium*, *B. subtilis*, *B. alvei*, *M. asterosporus*, *B. tyrothrix-scaber*, *B. tumescens*, *Spirillum giganteum* et *Sp. volutans*.

Dans les cellules jeunes du *Bacillus radicosus* et *B. mycoïdes*, Guilliermond constate leur aspect homogène : « Cela peut s'expliquer, soit par la densité du cytoplasme, soit par un état particulier de la membrane, soit par un mélange de cytoplasme et de chromatine ». La cloison transversale des cellules se présente d'abord sous forme de deux granulations latérales, qui se soudent en un anneau; celui-ci devient un disque qui se clive; les deux moitiés de ce dernier séparent les cellules sœurs. Lorsque les deux granules ne sont pas situés l'un en face de l'autre, ils donnent l'impression de deux noyaux venant de se diviser. Par sa forme lenticulaire ou discoïdale, sa forte chromaticité, la membrane transversale a une certaine ressemblance avec un noyau. Guilliermond insiste sur les caractères de cette cloison et montre précisément qu'il est impossible de la confondre avec un noyau; à ce sujet, il est en plein accord avec Schaudinn. On rencontre, en effet, des granules lenticulaires dans les cellules sporulées qui ne renferment par conséquent plus de chromatine.

Les cellules ayant 8-10 heures de développement ont un contenu hétérogène. En colorant post-vitalement au bleu de méthylène dilué, ce cytologiste distingue des cloisons transversales, des granulations chromophiles disséminées dans la trame du cytoplasme spumeux; ces dernières ont une affinité intense par les matières colorantes basiques et ressemblent à ce point de vue à la chromatine du noyau des cellules végétales. La spore est formée à l'origine d'un granule qui, après avoir acquis un certain diamètre, ressemble à un noyau.

Par comparaison avec la chromaticité des jeunes membranes, cet auteur incline à penser que la zone colorable entourant la spore représente la membrane de cette dernière. Ultérieurement, la membrane de la spore devient imperméable aux colorants.

Guilliermond met en évidence les mêmes particularités dans d'autres Bacilles endosporés : *Bacillus megatherium*, *B. alvei*, *B. limosus*. Les corpuscules métachromatiques disparaissent pendant la sporulation. L'auteur a cherché si la structure des Bactéries subit des variations lorsqu'on cultive celles-ci sur des milieux de nature différente; il constate que les variations portent sur les matières de réserve, mais la structure de la cellule n'offre pas de changement sensible; il a cependant vu dans *Bacillus radicosus*, cultivé sur carotte ou pomme de terre, l'agglomération des granules chromatiques au centre du corps cellulaire, et il se base sur cette intéressante particularité pour envisager la nature chromatique des granulations observées dans la plus grande partie du développement de

toutes les espèces étudiées. Guilliermond n'a pas constaté de cas d'autogamie. Les corpuscules métachromatiques, parfois très abondants, se différencient aisément des autres éléments figurés, notamment des granulations chromatiques; ils sont absorbés par la spore. Quelquefois, un seul corpuscule métachromatique peut subsister dans le cytoplasme inutilisé par la spore, mais il ne tarde pas à disparaître.

Spirillum volutans, *Sp. giganteum* ont une structure analogue à celle des Bacilles endosporés; dans ces espèces, le cytoplasme alvéolé contient des granulations chromatiques présentant les mêmes caractères que celles des Bacilles. La division des Spirilles est toujours transversale.

Guilliermond fait une revue critique de ses résultats et de ceux des auteurs qui l'ont précédé. Il remarque qu'il n'a établi la présence d'aucun élément chromophile rappelant le corps central trouvé par Bütschli ou la spirale chromophile figurée par Swellengrebel. Il élimine l'opinion de Fischer, Massart, Migula, d'après laquelle les Bactéries seraient des organismes dépourvus de toute substance nucléaire. Il n'est pas possible de considérer les corpuscules métachromatiques comme des noyaux (opinion de Babès, Ernst) ou comme des granulations de chromatine (opinion de Bütschli). Arthur Meyer a confondu, chez *Bacillus asterosporus*, le prétendu noyau avec un corpuscule métachromatique. Les noyaux figurés par Karel Kruis et Bohnslav Rayman sont en réalité des cloisons transversales des cellules qui se divisent. Guilliermond voit simplement une ressemblance entre l'ébauche de la spore et le noyau; il envisage la nature chromatique des granulations constantes qu'il a observées, et il conclut : « Les Bactéries renferment une chromatine plus ou moins mélangée au cytoplasme, parfois différenciée à l'état de granulations et se précipitant pour former la spore qui serait constituée en majeure partie par de la chromatine. »

Guilliermond répond avec précision aux objections de Mencl prétendant que les Bacilles renferment un noyau typique, donc bien distinct de la cloison transversale. Le noyau, trouvé par Mencl chez un Bacille rencontré dans *Bryodhrilus Ehlersi*, existe réellement; il est bien caractérisé, comme celui des Levures auxquelles ce microorganisme appartient en réalité. Quant aux noyaux du Bacille de *Periplaneta orientalis*, ce sont, sans aucun doute possible, des cloisons transversales.

Guilliermond décèle une spirale chromatique dans le corps d'une Bactérie trouvée dans l'intestin de l'*Echinocardium cordatum*.

Récemment (1926), cet auteur a élucidé la structure des *Beggiatoa*. L'équivalent du noyau consisterait en un ensemble de granulations éparses dans le cytoplasme, dont l'aspect alvéolé est dû surtout à des inclusions graisseuses, colorables au « nadi ».

Les travaux de Guilliermond ont apporté une contribution très importante à la théorie du noyau diffus.

Les mémoires de Dobell (1909), bien qu'ils se rapportent au poly-

morphisme du noyau, s'harmonisent par certains côtés avec la théorie du noyau diffus. Le noyau est formé, soit par un ensemble de granulations chromatiques éparses dans le cytoplasme (type *Bacillus flexilis*), soit par un filament spiralé (type *Bacillus spirogyra*), soit enfin par un reticulum chromatique irrégulier (type *Bacillus saccobranchi*). On peut rencontrer dans l'évolution d'une même espèce plusieurs formes de noyaux : noyau sphérique, noyau du type *Bacillus flexilis*, modifié du Triton et de *Lacerta* (à l'état de granulations). Les Spirilles offrent trois types de structures nucléaires : la structure granuleuse (type *Spirillum monospora*), la structure filamenteuse (type Spirille de *Lacerta*), la disposition en bandes transversales. Les corpuscules métachromatiques n'ont pas été confondus avec les granulations chromatiques. Dobell rejette la conception de Ruzicka (théorie du noyau nu). Il discute certaines observations faites sur *Bacillus flexilis* à propos de la sexualité des Bactéries. Les cas de pseudo-autogamie observés par Schaudinn résultent d'une interprétation erronée de l'absence de la division cellulaire. Il conclut à l'inexistence de phénomènes sexuels chez les Bactéries.

Dobell examine un Spirille de grandes dimensions, *Cristispira veneris* (2 μ de large). Il fixe à l'acide osmique et colore par la méthode de Giemsa. C'est un organisme cylindrique contenant des septa de cytoplasme régulièrement espacés, isolant une série de vacuoles. Les granulations chromatiques (noyau) se trouvent à la périphérie des septa cytoplasmiques, ou bien ils sont disposés en zig-zag à travers la cellule. La membrane ondulante, « crista », n'est pas identique à celle des Trypanosomes, puisqu'elle n'apparaît que comme une simple expansion de la membrane cellulaire; d'ailleurs, elle n'offre pas de structure fibrillaire ni de blépharoplaste; mais elle n'est pas le résultat d'un artifice de préparation comme le croit Schellack. La division cellulaire est toujours transversale.

Ultérieurement (1912), Dobell passe en revue la morphologie générale des Spirochètes, leur structure et leur position systématique. Ces microrganismes ne présentent pas de membrane ondulante, ni de blépharoplaste, ni de flagelle, et n'ont par conséquent pas de différences essentielles avec les Bactéries.

Schellack (1909) signale dans plusieurs Spirilles des Mollusques une structure analogue à celle qui a été décrite précédemment par Dobell, mais il est en désaccord avec ce dernier auteur au sujet de la position des granulations chromatiques : pour Schellack, la substance nucléaire se trouve dans les parois des alvéoles et non à la périphérie des septa.

West et Griffiths (1909) colorent chez une Bactérie sulfureuse, *Hillhousia mirabilis*, un noyau formé d'un ensemble de granulations chromatiques éparses dans le cytoplasme.

En 1911, Zufferer (Mlle) observe dans *Spirochaete plicatilis* un cytoplasme, disposé suivant une bande hélicoïdale, traversé par un filament axial élastique. Dans chaque circonvolution du cytoplasme se trouve un grain de chromatine; l'ensemble de ces grains constitue

un noyau diffus. La cellule se divise transversalement en deux, parfois en plusieurs individus. Il n'existe pas de membrane ondulante. L'auteur conclut que les Spirochètes sont éloignés des Algues, notamment des *Spirulina*, dont les caractères cytologiques sont tout autres.

Gross (1910) montre que *Spirochæte Balbianii*, *Cristispira veneris* possèdent des septa de cytoplasme très sidérophiles séparant des vacuoles. La membrane a un prolongement, une crête (crista) sans blépharoplaste. La division transversale est précédée d'un recourbement de l'individu, dont les deux extrémités se rejoignent. Ce recourbement a été confondu par certains auteurs avec une division longitudinale. La substance nucléaire n'est pas figurée. Les Spirochètes sont plus voisins des Bactéries que des Protozoaires.

Annie Porter (1910) signale que le noyau de *Spirochæte Balbianii* et de *Sp. adononta* est à l'état de bandes transversales de chromatine. Pendant la division longitudinale, les grains basaux situés à l'extrémité du corps se partagent. La cellule se scinde aussi transversalement.

Pour Georgewitch (1911), le noyau du *Bacillus thermophilus* est à l'état diffus, excepté dans les éléments germinatifs et la spore, qui renferment un granule central.

Virieux (1912) voit dans l'*Achromatium oxaliferum* des granulations chromatiques, des grains solubles dans l'acide acétique.

Linde (1913) fixe à chaud *Cladothrix dichtoma* dans le but de dissoudre la volutine; il fixe aussi au sublimé acétique et colore à l'hématoxyline. Il différencie des granulations périphériques ayant des affinités tinctoriales analogues à celles du noyau des Infusoires et des Moisissures témoins. Les filaments ne donnent jamais de formes spirillaires.

Chatton (1913) ne trouve pas de noyau condensé dans une grosse Bactérie de l'intestin du cobaye, *Metabacterum polyspora*, qui possède plusieurs granules dont chacun est une ébauche sporogène.

Boris de Petschenko (1913) étudie une Bactérie trouvée dans les branchies d'une truite; il identifie ce microbe avec *Chlamydothrix ochracea*. Il fixe dans la solution physiologique additionnée de sublimé et colore au liquide de Giemsa. Il met en évidence dans les cellules végétatives des corpuscules et des filaments chromatiques. Des formations, considérées par l'auteur comme des spores endogènes, apparaissent au milieu de chaque cellule, sous forme de sphérules se colorant à la périphérie en rouge et au centre en bleu, et renfermant plusieurs corpuscules métachromatiques.

De Petschenko admet que le contenu cellulaire serait constitué par deux substances : l'une, achromatophile, se teignant en rose (cytoplasme); l'autre, chromotophile, colorable par le liquide de Giemsa en bleu (nucléine), se trouve parfois à l'état de granulations. Les cellules sont susceptibles de prendre une teinte violacée après coloration, lorsque les deux substances sont mélangées. Au cours de la dégénérescence, seule, la substance chromatophile disparaît; la cel-

lule prend alors une teinte rose, puis les grains chromophiles se résorbent.

Les corpuscules métachromatiques se développent aux dépens de la substance chromatophile et se comportent comme des substances de réserve.

Perfiliev (1914) ne voit pas de corps central, ni de noyau, chez une Bactérie verte, *Pelodictyon clathratiforme*.

Lwoff (1923) montre que les Bactéroïdes de la blatte se divisent selon un processus identique à celui qui a été décrit par certains auteurs (Schaudinn, Guilliermond). Les cloisons transversales prennent naissance aux dépens de deux granules latéraux qui se rejoignent circulairement en un anneau qui, après resserrement, devient la membrane transversale.

Nadson et Wislough (1923) voient dans l'*Achromatium oxaliferum* : des petits grains plus chromophiles que la couche cytoplasmique périphérique; des corpuscules métachromatiques dans la zone centrale ou en dehors de cette dernière; des gouttelettes de soufre et d'oxate de chaux.

Hollande (1924) fixe des frottis de *Cristispira tapetos* et discerne de fines granulations chromatiques dont l'ensemble constitue un noyau. Autour du corps cellulaire, s'insère un ruban hélicoïdal (simple épaississement de la membrane) qui déterminerait la forme en spirale de ce microbe. Hollande rapproche les *Cristispira* des Bactéries.

Pour Alexieff (1924), les Bactéries et les Cyanophycées sont dépourvues de noyaux (*Acaryobiontes*). Il base cette opinion sur l'étude du *Bacillus mitochondrialis*. Les corpuscules métachromatiques sont colorables après fixation au liquide de Lenhossek, à l'hématéine, à l'hématoxyline de Delafield, mais ne le sont pas à l'hématoxyline ferrique. Il pense que les granulations métachromatiques signalées par divers auteurs sont des précipités de nucléoprotéine; il rapproche la métachromatine de la mucine. Les grains *basophiles* des auteurs ne sont pas colorables par le carmin aluné ni par le picrocarmin de Ranvier, l'hématoxyline de Delafield et par l'hématéine, ce qui les différencie de la chromatine; ils sont digérés par le *Cercomonas;* Alexieff assimile ces grains aux mitochondries. Le prétendu noyau du *Bacillus fusiformis*, figuré par Holling, le noyau décrit par Dobell dans *Paraspirillum Vejdovskyi*, ne sont que des amas de mitochondries.

Beauverie (1925) résume ses observations sur l'*Azotobacter chroococcum*. Il fait usage de nombreuses méthodes de fixation et de coloration. Dans les cellules normales, la chromatine apparaît à l'état de granules sidérophiles situés aux nœuds de la trame cytoplasmique. La cellule desséchée est devenue un corpuscule assez petit contenant une vacuole à métachromatine, et une masse de chromatine logée dans l'arc de cytoplasme. La membrane cellulaire disparaît (fond flou) et libère des « corpuscules régénérateurs ou rénovateurs », différents des endospores; ceux-ci redonnent naissance aux formes normales. Le symplasme bactérien n'existe pas.

Récemment, Fourment (1926), reprenant, à la suite des travaux de Guilliermond sur la cytologie des *Beggiatoa*, l'étude des Sulfuraires du genre *Thiothrix*, ne peut, lui non plus, déceler de noyaux dans la cellule de ces microrganismes, mais ces derniers ne posséderaient pas non plus de corpuscules métachromatiques. Par contre, il existe dans le cytoplasme, au contact des gouttelettes de soufre, de petits grains réfrigérents colorables en bleu pâle *in vivo* par le bleu de crésyl. L'auteur attribue à ces grains protoplasmiques une importance dans le métabolisme du soufre chez les *Thiothrix*.

TECHNIQUE

Nous avons eu recours dans ce travail aux méthodes courantes de la cytologie; ce n'est qu'accessoirement que nous avons utilisé des techniques bactériologiques spéciales.

I. Observations vitales

Si l'on examine *vitalement* des Bactéries dans l'eau à un grossissement suffisant (1.500), on voit que le contenu cellulaire est hétérogène : on y distingue des inclusions réfrigérentes de nature graisseuse, des vacuoles moins réfrigérentes, parfois des spores en voie de formation.

On sait en quoi consiste la pratique de la coloration vitale, que Guilliermond a appliquée avec le plus grand succès à l'analyse des constituants morphologiques de la cellule.

Il est indispensable de *colorer vitalement* si l'on désire obtenir des renseignements plus précis sur le contenu de la cellule. Le bleu de méthylène, le bleu de crésyl, de Nil, de toluidine, le rouge neutre sont employés très dilués. Au bout de quelques minutes, on constate que certaines granulations prennent une teinte rouge violacé au contact de solutions étendues des bleus de crésyl, de Nil, de toluidine. Elles sont constituées par de la métachromatine. La coloration est bien vitale, car les cellules ainsi traitées sont, après ensemencement, l'origine de nouvelles souches. Richard, d'ailleurs, a pu cultiver le Bacille de la diphtérie dans des milieux contenant de faibles doses de bleu de Nil.

Si l'on prolonge la durée de la coloration vitale ou si l'on augmente légèrement la concentration des bleus (bleu de crésyl, par exemple), au bout d'un temps variable, de l'ordre de quelques minutes, le protoplasme se colore légèrement en bleu; les granulations chromatiques, en bleu sombre. S'il s'agit d'un champignon le noyau se colore électivement en bleu foncé.

Nous aurons ainsi réalisé une *coloration post-vitale*.

II. Observations après fixation et coloration

On place les frottis humides dans les liquides fixateurs pendant une durée variable pouvant parfois être réduite à deux heures, puis on lave les préparations une demi-journée à l'eau courante.

a) **Les fixateurs.**

Pour l'étude de la *substance nucléaire*, presque tous les fixateurs conviennent, qu'ils contiennent ou non de l'acide acétique ou de l'alcool : liquides de LENHOSSEK, de PERENYI, de FLEMMING, de REGAUD (IV), de BOUIN, de MÈVES, d'ALTMANN, de HELLY, de BENSLEY, de TELLIENICZKY, de ZENKER, de CARNOY, de GILSON, de LADOWSKY, le formol, parmi lesquels les quatre premiers donnent de très bons résultats. Voici la formule de quelques-uns de ces liquides.

Liquide de FLEMMING faible :

Solution d'acide chromique à 1 %	25 cm3
Solution d'acide osmique à 1 %	10 —
Solution d'acide acétique à 1 %	10 —
Eau distillée	55 —

Liquide de LENHOSSEK :

Solution saturée de bichlorure de mercure.	75 cm3
Acide acétique cristallisable	5 —
Alcool absolu	20 —

Après avoir enlevé l'excès de fixateur à l'eau courante, on élimine le sublimé par passage des préparations dans une solution iodo-iodurée (lugol), puis on lave à l'alcool, qui enlève l'iode.

Liquide de PERENYI :

Solution d'acide azotique à 10 %	40 cm3
Alcool absolu	30 —
Solution d'acide chromique à 0,5 %	30 —

Liquide IV de REGAUD :

Solution de bichromate de potassium à 3 %	80 cm3
Formol à 40 %	20 —

Fixer pendant une durée de huit jours, mordancer de huit à quinze jours dans une solution de bichromate de potassium à 3 %.

Ces liquides, dits « fixateurs nucléaires », ne conviennent pas tous pour l'étude du *cytoplasme*. Dans ce cas, on emploie les fixateurs mitochondriaux : ce sont les liquides de MÈVES et de REGAUD. Nous avons eu recours à ces liquides qui donnent d'excellentes fixations de cellules nucléées.

b) **Les colorants.**

On peut colorer rapidement (30 minutes) les Bactéries dans une solution aqueuse à 1 % de *bleus* de méthylène, de crésyl, de toluidine, de UNNA, dans le colorant de GIEMSA (1) aqueux à 10 %. Le cytoplas-

(1) Il est nécessaire de mélanger le colorant de GIEMSA (R. ou L.) à de l'eau distillée légèrement alcalinisée (produisant un virage du rouge neutre à 1 %). On différencie, soit dans de l'eau distillée contenant de faibles doses d'acide borique, ou de phosphate monosodique, ou de tanin (5 %), soit dans l'alcool absolu.

me est teinté en bleu, les granulations chromatiques en bleu sombre (parfois en rouge par le liquide de Giemsa) et les corpuscules métachromatiques en rouge. On peut d'ailleurs se rendre compte que ces bleus produisent les mêmes effets de coloration avec des champignons dans lesquels le noyau est coloré en bleu sombre.

On enlève l'excès de matière colorante et on monte au baume. Si l'on emploie l'*hémalun* de Mayer (30 minutes), on différencie par un lavage à l'eau courante. Le cytoplasme est coloré en violet pâle; la substance nucléaire en violet foncé, et les corpuscules métachromatiques, en rouge.

Les préparations, traitées dans une solution alcoolique (50°) de *safranine* à 0,05 % pendant vingt-quatre heures, doivent être regressées dans l'alcool absolu.

La méthode de Küll consiste à chauffer les préparations recouvertes de solution de *fuchsine acide* (à 1/50 dans l'eau anilinée) jusqu'à émission des vapeurs; on enlève l'excès de fuchsine, puis on traite le frottis par une solution aqueuse de bleu de toluidine à 0,5 % (quelques secondes), qui colore le fond, après quoi on différencie dans une solution alcoolique (95°) d'aurantia à 0,5 %. La substance nucléaire et les mitochondries apparaissent colorées en pourpre).

Avec l'*hématoxyline ferrique*, il est nécessaire de mordancer les frottis vingt-quatre heures dans une solution d'alun de fer ammoniacal à 3 %; on lave, puis on place les frottis pendant vingt-quatre heures dans la solution d'hématoxyline :

Hématoxyline	1 gramme
Alcool à 95°	10 cm3
Glycérine	10 —
Eau distillée	80 —

On regresse sous le microscope avec la solution d'alun à 3 % et on monte en baume. On peut compléter cette coloration par celle du fond avec une solution aqueuse d'érythrosine à 1 % : le cytoplasme est rose; la substance nucléaire, noire.

III. **Réactions spéciales**

a) **Corpuscules métachromatiques.**

Ils sont insolubles dans le formol, l'alcool éthylique, l'eau contenant de l'acide acétique. Pour mettre sûrement en évidence les corpuscules métachromatiques, il suffit de fixer au formol quelques instants, de laver et de colorer avec une solution aqueuse à 1 % de bleus de crésyl, de toluidine, pendant 15-20 minutes. Si l'on se sert du bleu de Unna, on différencie très vite dans le glycérinaethermischung dilué de 50 % d'eau. Les corpuscules métachromatiques sont colorés intensément en rouge violacé.

b) **Glycogène.**

La solution iodo-iodurée (eau 100, iode 4 gr., iodure de potassium 6 gr.) confère au glycogène une coloration brun acajou.

c) **Granulations graisseuses.**

A. *Toutes les substances graisseuses* sont décelées *vitalement* par la méthode de Zweibaum et Mangenot, qui est basée sur la solubilité dans les graisses du bleu d'indophénol colloïdal, à l'état naissant. Le bleu d'indophénol étant insoluble dans l'eau, il ne doit être préparé qu'au moment de l'emploi, en mélangeant à parties égales une solution aqueuse de diméthylparaphénylènediamine chlorhydrate ou sulfate) à 0'5 % avec une solution aqueuse de thymol (thymol à 0,71 %, KOH 0,21 %). Les inclusions graisseuses sont teintées en bleu-violet.

Les substances grasses sont colorées, soit *post-vitalement* en rouge brique par une solution saturée de Soudan III ou de Scarlach dans l'alcool à 70°, soit *après fixation* au formol. Dans ce dernier cas, on différencie très rapidement dans l'alcool à 40° et on monte à la gélatine glycérinée.

Elles réduisent en général l'acide osmique ou les liquides osmiés, et noircissent par suite de la précipitation de l'osmium.

B. *Distinction entre les graisses neutres et les phosphatides.* — Les phosphatides sont mis en évidence par la *méthode de* Dietrich. Après fixation au formol, on mordance pendant quarante-huit heures à l'étuve à 38° dans une solution de bichromate de potassium à 3 %; on lave soigneusement, on colore pendant vingt-quatre heures à l'étuve à 38° avec une solution d'hématoxyline acétique (hématoxyline dissoute dans très peu d'alcool, 1 gr.; solution d'acide acétique à 2 % 100 cm.), puis on différencie au mélange de Weigert (mélange à parties égales d'une solution aqueuse de borax à 4 % et d'une solution aqueuse de ferricyanure de potassium à 5 % . Les lipoïdes sont colorés en noir intense par l'hématoxyline.

IV. Méthodes spéciales tirées de la Technique bactériologique

a) **Coloration par la méthode de Gram.**

On recouvre les frottis séchés à la flamme d'une solution de violet de gentiane phéniqué pendant une demi-minute, on rejette l'excès du liquide, et on verse à deux reprises quelques gouttes d'une solution iodo-iodurée (iode, 1 gr.; iodure de potassium, 2 gr.; eau, 200); on verse l'excès, et on ajoute goutte à goutte de l'alcool absolu. Certaines Bactéries ont une vive affinité pour la combinaison d'iode et de violet de gentiane et ne se laissent pas décolorer par l'alcool.

b) **Mise en évidence de l'acido-résistance par la méthode Ziehl-Neelsen.**

On fixe les frottis à la flamme, on les recouvre avec du liquide de Ziehl (fuchsine phéniquée) et on les place sur la platine chauffante jusqu'à l'émission de vapeurs; on égoutte et on recommence trois fois. Puis on regresse à l'acide azotique au tiers pendant deux minutes. Il est possible de poursuivre la décoloration du fond à l'alcool et le teinter ensuite au bleu de méthylène ou de crésyl.

c) **Coloration des spores par la méthode de Moeller.**

On sèche les frottis à la flamme ou on les fixe à l'alcool absolu, puis on mordance, dans une solution d'acide chromique à 5 %, cinq minutes; on colore à la fuchsine phéniquée cinq heures, puis on décolore par l'acide sulfurique à 5 %, on lave et enfin on teinte le fond au bleu de méthylène. Les spores sont colorées en rouge; le cytoplasme est bleu.

d) **Coloration des cils par la méthode de Van Ermenghen.**

La fixation des frottis se fait dans la solution suivante pendant 30 minutes :

Acide osmique à 2 %	8 cm3
Solution aqueuse de tanin à 10 %	16 —
Acide acétique cristallisable	1 goutte

On lave à l'eau distillée, puis à l'alcool absolu et on laisse évaporer, on plonge pendant deux minutes dans une solution aqueuse d'azotate d'argent à 1/100; on lave de nouveau à l'eau distillée, puis on traite par le liquide réducteur :

Acide gallique	5 grammes
Tanin	3 —
Acétate de soude fondu	10 —
Eau distillée	350 —

Après un nouveau lavage, replonger dans le bain argentique durant deux minutes, et placer le frottis directement dans le liquide réducteur pendant une ou deux minutes, laver à l'eau distillée, puis finalement replacer la lame dans le nitrate d'argent à 1 % jusqu'à noircissement, laver, sécher et monter.

Les cils apparaissent en noir, car ils sont imprégnés d'argent métallique.

Il est absolument indispensable de se servir de lamelles très propres pour l'étalement des frottis.

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE CYTOLOGIQUE DES DIVERSES ESPÈCES

Les résultats ont été obtenus sur des Bactéries très différentes d'après leur morphologie générale et leur mode de vie. Les formes de grandes dimensions, qui sont très favorables à l'observation, ont fait l'objet de remarques détaillées. Certains microrganismes qu'on ne peut classer parmi les Bactéries : Bacille de la tuberculose, les Actinomycètes et l'*Oscillospira Guilliermondi*, ont été étudiés dans le but de préciser leurs relations taxinomiques, soit avec les Bactéries, soit avec des groupes végétaux plus évolués, comme les Cyanophycées et les Champignons.

Nous classons les Bactéries et microrganismes voisins suivant l'ordre qui est généralement adopté dans les traités classiques : formes rondes, Cocco-bacilles et Bacilles, Spirilles; formes filamenteuses, Sulfuraires, Bactéries atypiques, Actinomycètes, *Oscillospira Guilliermondi*. Enfin, nous décrivons sommairement les caractères de certaines cellules ayant servi de matériel de comparaison, puis nous résumerons les faits constatés au cours de nos recherches.

FORMES RONDES

La plupart des auteurs ont publié des mémoires relatifs à l'existence du noyau chez les formes rondes. Les Cocci, Streptococci, Sarcines sont bien caractérisés morphologiquement : la découverte d'un noyau apporterait une signification nouvelle sur la phylogénie de ces organismes, sur laquelle nous reviendrons dans le chapitre consacré à la place des Bactéries dans la classification.

Schotellus (1888), Sjöbring (1892) et d'autres auteurs ont coloré des noyaux dans des *Cocci* et des *Micrococci*. D'après Mencl (1914), Prazmowsky, chaque cellule de l'*Azotobacter chroococcum* aurait un noyau sphérique vésiculeux se divisant par amitose (formation d'une haltère et séparation de deux masses). Mencl a étudié des Sarcines et des *Micrococci* nucléés. Pour Kirchensteins (1922), les *Cocci* possèdent un noyau.

Ruzicka, ne parvenant à déceler un noyau dans les *Micrococci*, prétend que la cellule est en réalité un noyau.

Par contre, Ellis ne peut pas différencier un noyau chez *Sarcina ureæ*, *Sarc. pulmonum*, *Streptococcus tyrogenus*.

Récemment, J. Beauverie (1925) conclut à l'existence d'un noyau diffus dans *Azotobacter chroococcum;* ce dernier consisterait en une série de granulations chromatiques disséminées dans le reticulum cytoplasmique.

Au cours de ces recherches, les éléments figurés du cytoplasme ont été distingués les uns des autres. Nous avons différencié les formations qui semblent être de nature nucléaire avec les substances de réserve, parmi lesquelles il faut placer au premier rang les corpuscules métachromatiques, dont les aspects sont parfois difficiles à distinguer des granulations chromatiques.

Leuconostoc mésentéroïdes (Van Tieghem) Cienkowsky

Van Tieghem (1878) a rencontré cette espèce dans des macérations de datte ou de carotte, renfermant du sucre de canne: il l'a identifiée au microrganisme des sucreries, sécrétant la gomme des sucres. D'après Van Tieghem, ce microbe est un *Nostoc* produisant des arthrospores de 1 à 2 μ dont il a observé la germination. En se basant sur les caractères morphologiques, ce savant n'avait pas hésité à l'incorporer au groupe des *Nostoc* (Algues bleues).

Cette espèce a servi d'appui au rattachement des Bactéries aux Cyanophycées et par suite aux Algues.

Violle (1922) étudie une espèce de *Leuconostoc* qu'il nomme *Leuconostoc mesenteroïdes,* le comportement de celle-ci, sur différents milieux, ses caractères de coloration (Gram positif et ses propriétés biochimiques; Violle ne trouve ni d'arthrospores, ni d'endospores.

Crown (1922) discerne dans les chaînes de cellules de cette espèce des éléments plus gros, mais qui sont semblables à tous égards aux autres; ces grosses cellules ne sont par conséquent pas homologables aux hétérocystes des Cyanophycées ni aux arthrospores. Les cellules ne contiennent pas de glycogène, ni de graisses.

L'enveloppe n'est pas de nature albuminoïde ou cellulosique; mais elle présente certains caractères de la callose. La membrane ne se colore pas avec le rouge de ruthenium, et les cellules peuvent être facilement séparées de leur enveloppe. La membrane mucilagineuse se produit seulement dans les milieux sucrés; comme il y a production d'invertine, il est vraisemblable que c'est aux dépens du glucose que se constitue le mucilage.

Tous ces caractères éloignent donc le *Leuconostoc* des Cyanophycées et des Algues et le rapprochent du genre *Streptococcus.*

Cette espèce n'a pas été étudiée au point de vue de la structure interne.

L'espèce dont on s'est servi provient d'une souche pure isolée par Violle. Elle sécrète des glucosanes, alors que le *Leuconostoc mesenteroïdes*, étudié par Van Tieghem, sécrète des pentosanes. On peut néanmoins ranger ce microrganisme sous le nom classique.

La culture du *Leuconostoc* a été faite sur de la gélose sucrée aux

haricots; on ajoute à de la gélose neutre de l'eau peptonée, ayant bouilli pendant quinze minutes au contact de haricots secs, additionnée d'un peu de saccharose, glucose, maltose, dextrine, de bicarbonate et de chlorure de sodium. On ensemence, et au bout de vingt-quatre heures, à l'étuve à 35°, on observe des masses cérébriformes caractérisant les cultures de cette espèce. Le développement maximum est obtenu quarante-huit heures après l'ensemencement.

Le *Leuconostoc* se présente *in vivo* sous forme de cellules immobiles, parfois isolées ou groupées en Sarcines, mais beaucoup plus fréquemment en chaînettes (type Streptocoque) sécrétant une gelée mucilagineuse, la gomme des sucres. Dans une chaînette, on rencontre des cellules plus grosses que les autres, mais qui ne ressemblent pas aux hétérocystes. D'autre part, il fut impossible de constater la présence d'arthrospores. L'observation vitale est rendue difficile par l'épaisseur de la membrane ou gaine, laquelle peut être mise en évidence *post-vitalement* en colorant par l'hérythrosine, en rose, le fond et le cytoplasme. Par ce moyen rapide, on se rend compte que la gaine (qui ne se colore pas) est plus épaisse que le diamètre cellulaire. Le *Leuconostoc* est un Streptocoque quelque peu polymorphe par ses formes de Sarcine et de Staphylocoque : un certain nombre d'individus vivent isolés; la forme Streptocoque domine.

La *fixation* a été faite aux liquides de Zenker, de Lenhossek, de Flemming; la coloration, au liquide de Giemsa, au bleu de méthylène, à l'hémalun, l'hématoxyline, la safranine; parmi ces substances colorantes, les deux dernières sont à préférer.

Dans chaque cellule, on distingue une grosse vacuole centrale : la disposition du cytoplasme est périphérique, surtout polaire, comme chez les Pasteurelles. Pendant la division cellulaire, la vacuole se divise et prend la forme d'une haltère aux extrémités de laquelle se porte le cytoplasme; celui-ci est alors surtout localisé au pôle opposé à l'étranglement.

On ne rencontre pas de noyau: on ne voit pas de corps central dont la présence permettrait de rapprocher le *Leuconostoc* des Algues, comme certains auteurs l'ont supposé. La vacuole ne renferme pas de corpuscules métachromatiques (*tableau 14*, *fig. 5*).

Le *Leuconostoc* n'a ni hétérocystes, ni arthrospores : les cellules, d'un tiers plus grosses que les cellules ordinaires, ont les mêmes caractères que ces dernières (même structure, chromaticité égale) et se divisent comme toute cellule de la chaîne.

Sarcine A (*tabl. 14*, *fig. 6-14*)

Cette espèce a été isolée de l'eau courante : elle se rapproche par son aspect extérieur de *Sarcina flava* (de Bary). Le diamètre est de 0,8 μ; les cultures, de couleur jaune de chrome, contiennent, après une semaine de culture, des formes d'involution très intéressantes qui atteignent 5-6 μ de diamètre et qui se prêtent bien aux ob-

servations. Les formes d'involution, examinées *vitalement*, sont parfois groupées par deux ou quatre : on ne rencontre jamais de bâtonnets ou de formes hélicoïdales; leur apparition paraît être en relation avec la dessiccation du substratum.

La *coloration vitale* au bleu de Nil permet de localiser un corpuscule métachromatique dans chaque forme normale qui ne contient qu'une vacuole. Les formes d'involution plus volumineuses ont un gros corpuscule métachromatique, parfois plusieurs, de dimensions variables. Dans certains cas, le corpuscule métachromatique unique est au contact de la paroi vacuolaire; il ressemble superficiellement à un noyau, mais il ne peut pas être question d'un tel organe.

Post-vitalement, le cytoplasme se teinte en bleu clair; il ne montre aucunes granulations dont l'ensemble pourrait constituer un noyau. Les corpuscules sont toujours localisés dans les vacuoles.

Après *fixation* au formol et *coloration* au bleu de toluidine, on rencontre des figures qui se superposent (*tableau 14*, *fig. 6*) à celles que nous avons vues au cours des observations vitales ou post-vitales. Parfois, sous l'effet de la fixation, les corpuscules métachromatiques émigrent dans le cytoplasme; d'après la couleur rouge et les observations post-vitales, on les différencie aisément des granulations chromatiques observées dans diverses Bactéries. Le Giemsa colore les corpuscules métachromatiques en rouge, et le cytoplasme en des nuances variant du bleu clair au rose. Dans la majorité des formes géantes, on ne rencontre qu'une seule vacuole, dont le volume est proportionnel à celui de la cellule (*tableau 14*, *fig. 8-13*).

Nous admettrons donc l'existence très fréquente d'une grosse vacuole à métachromatine dans les cellules normales ou atypiques.

Les Sarcines colorées à l'hématoxyline-érythrosine ont une structure d'apparence alvéolaire qui est due à la présence de vacuoles et d'enclaves non colorables : les trabécules cytoplasmiques sont homogènes. L'hématoxyline permet très souvent de teindre les corpuscules métachromatiques en noir : la vacuole prend alors un aspect de noyau (nucléoplasme et caryosome). Le corpuscule unique des cellules normales (*tableau 14*, *fig. 7*) et des formes d'involution (*tableau 14*, *fig. 14*) est constitué par de la métachromatine.

D'ailleurs, ces précipités n'ont ni la constance du noyau ni la régularité de ce dernier au point de vue des dimensions.

La substance nucléaire n'est pas à l'état figuré : comme il est difficile de concevoir de cellule sans noyau, nous admettrons l'hypothèse que la chromatine existe à l'état diffus.

Coccus B (*tabl. 14*, *fig. 3-4*)

Le *Coccus* a été trouvé dans le gros intestin d'un lézard, *Platydactylus mauritanicus*; le diamètre est de 1,7 µ. Il ressemble beaucoup à celui décrit par Dobell (1910) qui a trouvé dans ce *Coccus* un noyau vésiculeux,

In vivo, on constate que toutes les cellules n'ont pas le même diamètre, surtout lorsqu'elles ont été assemblées en tétrades (*tableau 14, fig. 3*) : on rencontre des individus, issus d'une même cellule, dont les uns ont une taille double des autres et des formes différentes de ceux-ci. Les vieilles cellules s'associent parfois en zooglée (*fig. 4*). La membrane, assez épaisse, est intermédiaire entre la gaine et l'enveloppe ordinaire de la plupart des Bactéries.

Si l'on *colore vitalement* au bleu de Nil, on reconnaît facilement une ou deux granulations métachromatiques intravacuolaires par cellule.

Après *fixation* au formol et *coloration* aux bleus de crésyl, de toluidine, de Unna, au violet de gentiane, au liquide de Giemsa, à la fuchsine basique, on obtient les mêmes résultats. On ne peut pas éviter la coloration des corpuscules métachromatiques par ces substances : il est parfois difficile de distinguer un précipité vacuolaire d'une granulation cytoplasmique, si l'on n'y prend garde.

Après fixation au liquide de Flemming, coloration à l'hématoxyline ferrique-érythrosine, ou à la safranine (*tableau 14, fig. 4*), on voit un cytoplasme nettement alvéolaire, car la coloration est beaucoup plus précise qu'avec les bleus d'aniline, qui ne permettent souvent de teinter que le cytoplasme uniformément et les corpuscules métachromatiques (noyau des auteurs); ces derniers semblent être inclus dans le cytoplasme.

Il existe aussi de petites vacuoles sans contenu chromophile, et des vides laissés par les inclusions graisseuses osmio-réductrices. On colore parfois à l'hématoxyline le précipité vacuolaire de métachromatine, même après fixation aux liquides de Flemming et de Perenyi.

Certaines portions du cytoplasme se teintent chez les cellules dégénérées. Mais il est impossible d'attribuer à ces irrégularités de coloration une ressemblance avec les granulations chromatiques que nous avons constatées chez les Bactéries de grandes dimensions.

Cette étude a été rendue favorable par le grand diamètre de cette espèce.

Coccus C

Il a été trouvé dans les mêmes conditions que l'espèce précédente. Malgré sa petite taille (0,7 μ), nous sommes parvenu à distinguer les mêmes particularités cytologiques.

Microrganisme ressemblant a un Nostoc (*tabl. 13, fig.7-9*)

Il se rencontre dans les dépôts de la source sulfureuse de Sidi-Ahmed-Zeroug, aux environs de Gafsa (1).

In vivo (*tableau 13, fig. 7*), ce microrganisme incolore, de 2 μ de

(1) Nous remerçions MM. Pallary et Anderson de leurs envois.

diamètre, a l'aspect d'un *Nostoc*. La forme des cellules n'est pas sphérique : ces dernières sont tantôt cubiques, ellipsoïdales, coccobacillaires. Il ne possède pas d'arthrospores, ni de hétérocystes, ni de kystes. Il nous a été impossible de le cultiver dans les milieux usuels dilués avec de l'eau de source.

La gaine se colore en brun acajou par l'iode.

Après *fixation* et *coloration* aux bleus d'aniline, il est aisé de constater que les cellules sont dépourvues de corpuscules métachromatiques, ce qui rend impossible la confusion de ces derniers avec les granulations chromatiques.

Les fixations à l'acide osmique, aux liquides de Lenhossek, de Zenker, de Bouin, de Carnoy, de Tellieniczky, au fixateur chromo-acétique de Flemming sont équivalentes et permettent de très bonnes colorations à l'hématoxyline-érythrosine; le violet de gentiane et l'hémalun réussissent moins. On distingue deux sortes d'éléments figurés de valeur morphologique différente :

1° De fines granulations chromatiques constantes (*fig. 8*) disséminées dans un cytoplasme alvéolaire. Elles se colorent très fortement et n'ont aucun rapport avec la métachromatine : elles sont insolubles dans le sulfure de carbone, l'éther anhydre, l'alcool éthylique et le xylol, et, de ce fait, on ne saurait les confondre avec des matières graisseuses, des chondriosomes. On peut supposer qu'elles sont de nature chromatique et que leur ensemble constitue un noyau diffus. Lors du partage cellulaire, ces granulations se répartissent dans les cellules filles; elles ne se condensent ni ne s'agglomèrent: elles n'ont rien de commun avec les plaques polaires décrites ci-après;

2° Dans la majorité, les cellules sont différenciées : certaines sont pourtant homogènes et ressemblent par là aux jeunes éléments des Bacilles endosporés; peut-être s'agit-il de jeunes individus.

Les *Cocci* différenciés et colorés à l'hématoxyline présentent à leur point de contact un ou deux corpuscules polaires, des vésicules ou des plaques aussi chromophiles que les granulations précédemment décrites. Ces formations, qui sont toujours localisées à la périphérie de la cellule, sont indubitablement liées à la division cellulaire (*fig. 9*).

Quelle est leur signification morphologique ? Doit-on les considérer comme des noyaux, au sens de Mencl ?

Nous n'avons pas constaté de rapport entre les granulations décrites et ces formations périphériques. D'autre part, un noyau n'est jamais situé constamment à la périphérie, en contact avec la membrane; en outre, certaines cellules ne renferment pas ces plaques.

Nous homologuons donc ces dernières avec les cloisons transversales des cellules en voie de division. D'ailleurs, quand l'anneau se rétrécit (en projection verticale, on voit deux traits), ces plaques ne se distinguent pas de la membrane dont elles font partie intégrante : c'est la membrane elle-même qui présente cet aspect. Il est impossible de songer au corps central des Cyanophycées,

Autre microorganisme ressemblant à un Nostoc (*tabl. 13, fig. 1-3*)

Il a été trouvé dans le cæcum du cobaye.

Cette espèce a des éléments de dimensions variables : les cellules situées au milieu d'une chaîne sont généralement celles qui possèdent un grand diamètre pouvant atteindre 3 µ. D'autres chaînettes n'ont que 0,8-1,5 µ de large. Il s'agit bien d'une même espèce, puisque l'on rencontre tous les intermédiaires dans une chaîne. Il semble que ces formes ne vivent pas à l'état isolé; en effet, elles sont toujours associées en chaînes (*tableau 13, fig. 1*). La membrane est plutôt une gaine.

On ne constate pas de granulations graisseuses après *coloration vitale* au « nadi », *post-vitalement* ou après *fixation*. L'iodo-iodure permet de colorer en rouge brun des enclaves de glycogène occupant parfois presque tout le volume cellulaire. Les vacuoles contiennent un certain nombre de corpuscules métachromatiques (*fig. 2*).

On obtient des résultats concordants après des fixations diverses (aux liquides de Perenyi, de Mèves, de Flemming, de Bouin, de Regaud, au formol, etc.) et des colorations variées, notamment à l'hématoxyline-érythrosine : le cytoplasme, d'apparence alvéolaire, renferme parfois des granulations sidérophiles. La formation et l'achèvement des cloisons transversales ont lieu, comme chez l'espèce précédemment étudiée, par la soudure de granulations en un anneau chromophile qui devient un disque (*tableau 13, fig. 3*).

On ne voit pas de disques disjoncteurs, ni de noyau ou de corps central, même après coloration de coupes très minces à la paraffine.

Les deux espèces précédentes n'ont qu'une ressemblance très superficielle avec les Cyanophycées.

Les espèces rondes étudiées ne semblent pas posséder de substance mitochondriale figurée : on n'obtient aucun résultat avec les colorants vitaux comme le vert Janus, le violet Dahlia; d'autre part, les méthodes de fixation altèrent le chondriome ou celles qui permettent une bonne fixation de ce dernier montrent indifféremment les mêmes aspects; la substance mitochondriale se trouve peut-être à l'état diffus.

Un deuxième point ressort de nos recherches : les *Cocci* et les formes voisines n'ont pas de noyau ni de corps central; par contre, le vacuole ou les vacuoles contiennent très fréquemment de la métachromatine condensée, substance qui a été confondue avec le noyau des cellules végétales. Nous sommes parvenu à dissocier les deux éléments figurés.

2. FORMES BACILLAIRES OU COCCO-BACILLAIRES

Parmi les formes bacillaires observées se trouvent plusieurs espèces de grandes dimensions qui sont particulièrement favorables à

l'observation. Avant d'exposer les faits constatés sur chaque Bacille, nous résumerons les travaux dont il a été l'objet.

Bacille A (*tabl.* 7 et *8*)

Il a été isolé aux environs de Lyon, à Caluire, d'un suintement muqueux d'un marronnier où il se trouvait associé au *Zygosaccharomyces Pastori*, étudié par Guilliermond. Il correspond au genre *Bacillus* du système de Migula.

Les principaux caractères de ce Bacille endosporé sont les suivants : cellules en bâtonnets de 1.5 μ de large, plus généralement de 2 μ; la longueur est de 3 à 7 μ; les individus sont immobiles, isolés ou groupés en chaînettes. On rencontre des formes d'involution très caractéristiques. Cette espèce est aérobie; elle ne prend pas le Gram; les colonies sur carotte, moût gélosé, ou gélatine, sont superficielles, blanches et homogènes; elles deviennent visqueuses en vieillissant. La température optima est de 30°; la température maxima est voisine de 65°. Les spores se conservent au moins quatre ans lorsque le substratum est desséché. Quand on examine les cellules dans l'eau, on voit dans celles-ci de petites taches réfringentes (*tableau 7, fig. 6*) qui sont des vacuoles ; le contenu de ces dernières n'a pas été déterminé. On peut aussi déceler des inclusions graisseuses colorables au « nadi » (*tableau 7, fig. 4*).

Les frottis humides ont été fixés à l'alcool, au formol, au liquide de Lenhossek, aux liquides d'Altmann, de Flemming, ainsi qu'au liquide de Regaud; on a coloré aux bleus de crésyl, de Unna, à la teinture de Giemsa, à l'hémalun de Mayer, à l'hématoxyline ferrique-érythrosine.

Chez les cellules âgées de huit à dix heures, on observe un cytoplasme ayant un aspect alvéolé, dû à la présence de vacuoles et à la disparition des inclusions graisseuses (qui ont été enlevées par le xylol lors du montage des préparations), et renfermant des granulations sidérophiles colorables en noir par l'hématoxyline, et en bleu par le liquide de Giemsa (*tableau 7, fig. 11-12*).

L'aspect de ces grains, leur disposition, leur chromophilie, sont analogues à ceux qu'a signalés Guilliermond chez plusieurs Bacilles endosporés : *Bacillus megatherium*, *B. alvei*, *B. asterosporus*, *B. subtilis*.

Dans les éléments cellulaires âgés de vingt-quatre heures, on aperçoit un granule polaire, plus volumineux que les autres granulations, colorable intensément à l'hématoxyline; ce granule grossit et ne tarde pas d'acquérir un diamètre semblable à celui de la cellule (*tableau 7, fig. 14*). Cette sphérule constitue l'ébauche de la spore (*tableau 7, fig. 14* et *15*); elle est entourée d'un épiplasme très sidérophile persistant jusqu'à la sporulation. La spore s'entoure d'une membrane faisant obstacle aux colorants (*tableau 7, fig. 15, 16* et *17*).

Au cours de la sporulation, les granulations chromatiques dispa-

raissent progressivement au fur et à mesure que le granule sporogène s'accroît; celles-ci n'ont donc aucune relation visible avec l'ébauche de la spore.

La division cellulaire est précédée de la formation d'une cloison transversale sidérophile, débutant par la soudure de deux grumeaux chromophiles situés l'un en face de l'autre, formant un disque qui se clive bientôt et libère les deux cellules sœurs (*tableau 7, fig. 12* et *13*).

Les granulations chromatiques observées ne paraissent pas correspondre à des mitochondries, car elles sont mises facilement en évidence au moyen de fixateurs contenant de l'alcool, de l'acide acétique, et sont colorables à l'hémalun. Or, on sait que les solutions alcooliques ou les solutions d'acide acétique détruisent généralement le chondriome. Après fixation au liquide de Regaud, et coloration à l'hématoxyline, on obtient des images moins nettes qu'avec les méthodes qui altèrent le chondriome. On peut donc supposer qu'il ne s'agit pas de mitochondries.

On peut interpréter ce processus en supposant que les granulations sidérophiles sont de nature chromatique comme la spore qui se développerait à leurs dépens. La spore naîtrait donc par condensation de la chromatine disséminée dans le cytoplasme et différenciée à l'état de granulations (hypothèse de Schaudinn).

Enfin, nous soulignerons que, tant par les colorations vitales que par les réactions spécifiques de la métachromatine, nous n'avons jamais pu mettre en évidence cette substance chez ce Bacille.

Les formes d'involution apparaissent dans les cultures âgées de quatre jours. Les vieilles cellules sont assemblées sur les milieux solides (moût gélosé) en un amas visqueux se dissociant très rapidement dans l'eau. Si l'on examine au microscope une vieille colonie, on constate de nombreuses formes aberrantes et des cellules sporulées. La variation morphologique porte sur la taille des cellules (augmentation ou diminution) et sur la forme (*tableau 8*) : on rencontre des chaînettes à gros éléments sphériques; des individus géants, parfois associés à des formes minuscules (*fig. 6, 8, 9, 10*); d'autres cellules rappellent quelque peu des *Cocci* (*fig. 5*), des fuseaux (*fig. 9*), des Spirilles (*fig. 3*), des formes massuées (*fig. 14*). Certains Bacilles sont très longs. Après coloration à l'hématoxyline, on constate que les formes d'involution ont un cytoplasme alvéolé (comme celui des Bacilles typiques) contenant des granulations sidérophiles analogues à celles qui ont été décrites ci-dessus (*tableau 8, fig. 3, 5* et *7*). Cette structure est déterminée par la présence de vacuoles et de matières graisseuses. On rencontre aussi des corpuscules polaires (*tableau 8, fig. 4*), des disques (*fig. 13*) représentant des ébauches de cloisons transversales; celles-ci sont d'ailleurs assez rares, car les cellules atypiques ne se divisent généralement pas.

Certaines cellules, teintées à l'hématoxyline, se décolorent irrégulièrement dans l'alun de fer (*fig. 9*); parfois, une moitié de la cellule est teintée en noir, alors que le reste du cytoplasme reste à peine très

pâle. Ces aspects curieux rappellent quelque peu des cellules nucléées, mais ces portions chromophiles n'ont aucun rapport avec un noyau.

On observe aussi des précipités chromatiques qui semblent situés dans les vacuoles (*fig. 6*). Comme dans les formes normales, il n'existe pas de corpuscules métachromatiques chez les formes d'involution.

Lorsqu'on ensemence un milieu neuf avec des Bacilles provenant d'une vieille culture, on constate que ce sont surtout les éléments issus de la germination de la spore qui donnent naissance à la nouvelle colonie. Les formes peu différentes du Bacille typique sont susceptibles de se diviser.

Ainsi, pour résumer nos observations, nous dirons que les formes d'involution ont la même structure que les formes normales.

Bacille B (*tableau 9, fig. 1-5*)

Il a été isolé à Lyon par M. le Docteur L. Langeron du sang d'un malade atteint de septicémie, mais il n'est pas pathogène. Il appartient au même type que le précédent; il est immobile et endosporé; son diamètre est de 1,7-2 μ.

Si l'on colore vitalement en bleu de Nil, on constate des corpuscules métachromatiques (*tableau 9, fig. 1*). On distingue dans les cellules fixées au liquide de Lenhossek, et colorées à l'hématoxyline ferrique, des granulations chromatiques comparables par leur aspect et leur chromaticité aux granulations sidérophiles du Bacille précédemment étudié (*fig. 2*). Les granulations diminuent quand l'ébauche de la spore se développe (*fig. 3* et *4*).

Bacille C (*tableau 10, fig. 1-5*)

Ce microbe a été trouvé dans une pomme de terre pourrie : il ne possède pas de spores; il est immobile; il se développe dans les bouillons alcalins usuels; sa largeur est de 1,8-2 μ. Les formes d'involution apparaissent dès le troisième jour; certaines d'entre elles sont ramifiées (*fig. 3*).

Les cellules renferment de nombreuses inclusions graisseuses réduisant l'acide osmique (*fig. 5*).

Le cytoplasme apparaît généralement homogène, après fixation au liquide de Lenhossek et coloration à l'hématoxyline.

Bacille D (*tableau 11*)

Ce microbe provient du contenu intestinal du crapaud. Le diamètre de ce Bacille est de 2 μ; il présente *deux spores*. On rencontre des cellules bacillaires (*fig. 2-3*), des éléments fusiformes (*fig. 8*). Ces différents types appartiennent à une même espèce : en effet, cer-

taines chaînettes renferment des Bacilles et des cellules fusiformes. Ces dernières se divisent par étranglement (*fig. 4*). Les individus de cette espèce sont immobiles. Le Bacille présente des formes d'involution; il est voisin du *Bacillus flexilis* décrit par Dobell et du *Bacillus Bütschlii* étudié par Schaudinn. Les cellules d'apparence homogène sont courtes et se divisent activement (*fig. 1* et *2*); en les comparant aux cellules jeunes des Bacilles endosporés qui ont ces caractères, on peut supposer qu'elles représentent des éléments germinatifs.

Lorsqu'on examine de telles cellules post-vitalement (*fig. 1*) au bleu de crésyl, on constate la présence d'un corpuscule métachromatique par cellule. Les autres Bacilles ont généralement un cytoplasme finement alvéolé et renferment un certain nombre de petites vacuoles à métachromatine (*fig. 2*). Parfois, on ne voit qu'une seule cavité centrale et de petites poches à la périphérie (*fig. 4*).

Après fixation et coloration à l'hématoxyline, on est parvenu à différencier des granulations sidérophiles disséminées dans le cytoplasme (*fig. 8-9*). Avant la sporulation, ces granulations se rassemblent dans la région axiale (*fig. 3*) de la cellule, d'une extrémité à l'autre, puis elles s'accumulent aux pôles (*fig. 8*) et y sont englobées par la spore (*fig. 10-11*).

La division cellulaire est toujours complète : on ne constate jamais la résorption de la membrane transversale, ni de fusionnement ultérieur : cette espèce est dépourvue de sexualité.

Les formes d'involution sont globuleuses (*fig. 12-13*) ou allongées. Certaines parties cellulaires sont très chromophiles; il est évident que ces portions de cytoplasme, insuffisamment régressées, n'ont aucun rapport avec un noyau.

Bacille E (*tableau 10, fig. 6-10*)

Il a été trouvé dans l'intestin du cobaye; il est moins polymorphe que le précédent : on le trouve généralement sous l'aspect d'un bâtonnet de 2 μ de large (*fig. 6*), à extrémités arrondies ou coniques (*fig. 8*); il est dépourvu de mobilité et possède deux spores (*fig. 9*). L'examen vital ou post-vital au bleu de crésyl a permis de déceler des corpuscules métachromatiques (*fig. 6*). On n'a pas remarqué d'enclaves graisseuses ni de glycogène.

Après des fixations diverses (notamment aux liquides de Flemming, de Bouin, de Lenhossek, de Perenyi, de Regaud, etc.) et coloration de coupes minces à la paraffine aux bleus de Unna, de crésyl, à l'hémalun, à l'hématoxyline ferrique, au vert Janus (1), on se rend compte qu'il a été possible de sectionner quelques spores et les colorer. On a

(1) Recouvrir la préparation de vert Janus dissout dans l'eau anilinée (0,1 % environ). Colorer à chaud au moyen d'une platine chauffante (le liquide ne doit pas bouillir) pendant quelques minutes. Enlever l'excès de colorant et différencier dans l'érythrosine aqueuse à 0,5-1 % : le fond est coloré en rose; la substance nucléaire, en bleu-vert intense.

constaté que la spore est constituée par un corpuscule colorable d'une manière homogène, entouré d'une membrane.

Bacille du charbon (*tableau 9, fig. 6-20*)

Une grande partie des travaux relatifs au Bacille du charbon ont trait à la description d'un noyau typique.

Schottelius, Sjöbring, Freinberg constatent un noyau se teintant intensément aux couleurs basiques d'aniline. Cependant, Ilkewicz affirme que les grains sporogènes ont été confondus avec des noyaux. Ruzicka constate, à l'analyse, que le Bacille du charbon contient 70 % de nucléine. Il traite les filaments par le sulfate de magnésie, le ferricyanure de potassium; il lave à l'eau et colore à l'hématoxyline. Il constate la disparition complète de toute substance colorable et il admet que la cellule du Bacille du charbon se comporte vis-à-vis de ces composés comme un noyau. Le Bacille du charbon est constitué, selon Ruzicka, par un reticulum de plastine contenant des granules de chromatine; la cellule du Bacille du charbon est comparable au noyau des cellules des Métazoaires; c'est un «noyau nu». Il obtient les mêmes résultats que Guilliermond, mais il interprète tout différemment ses observations. Guilliermond a, en effet, montré que la cellule des Bactéries possédait un cytoplasme dans lequel sont disséminées des granulations chromophiles. Et après avoir étudié le comportement du Bacille du charbon sur les milieux glycérinés, il constate l'apparition dans les cellules de corps « sporoïdes », insolubles dans l'alcool, l'éther, se colorant par le réactif de Millon. Ces corps sont différents des spores. Il observe que les bâtonnets charbonneux sont plus volumineux et « hyperchromatiques » quand on cultive cette espèce sur les milieux glycérinés. La spore se forme aux dépens d'un corps chromatique. Il attribue à la sporulation un rôle régularisateur mettant fin au déséquilibre causé par la surnutrition, et il compare ces faits à ceux observés par Hertwig chez l'*Actinospherium Eichorni*. La sporulation met fin à l'hypertrophie du corps chromatique.

Ruzicka aurait aussi mis en évidence des mitoses du corps bacillaire (noyau nu), à l'aide du bleu de méthylène phéniqué.

Preicz (1909) obtient des figures qui seraient identiques aux formations nucléaires trouvées par Schottelius.

Penau (1912) décèle un noyau transitoire et une formation basophile. Au début, le noyau, formé aux dépens de granulations chromatiques, est constitué par un nucléoplasme et un caryosome. Ultérieurement, le noyau devient vésiculeux et susceptible de se diviser, puis il se résout en granulations qui se condenseront de nouveau et formeront l'ébauche de la spore. La formation basophile (noyau diffus) fait suite au noyau volumineux et dense.

La culture initiale du Bacille charbonneux qui a servi à nos obser-

vations provient de l'Institut Pasteur de Tunis. Les cultures ont été placées à l'étuve à 30°.

Comme ce Bacille évolue rapidement, nous avons suivi son développement à des moments rapprochés; nous avons fixé les frottis humides toutes les deux heures, depuis la germination jusqu'à la sporulation, qui prend fin environ quarante-huit heures après l'ensemencement.

Les cellules âgées de 6-8 heures ont un contenu hétérogène : après coloration vitale au bleu de crésyl, on aperçoit quelques corpuscules métachromatiques (*fig. 6*). Les fixations ont été réalisées avec différents liquides (de Mèves, de Flemming, de Lenhossek); les colorations, avec la safranine, avec le bleu de méthylène, l'hématoxyline.

Nous avons constaté deux sortes d'éléments figurés, l'ébauche de la spore et des précipités de métachromatine dans les vacuoles.

1° *L'ébauche de la spore :*

Dans les Bacilles âgés de dix heures (*fig.* 9-10), avant que la culture atteigne un demi-centimètre de large, on constate que le cytoplasme ne contient en général aucunes granulations chromatiques analogues à celles qui ont été vues dans les Bacilles A, B, D. Mais on aperçoit dans la plupart des cellules un corpuscule sphérique (*fig. 10, 17, 18*), qui présente l'ébauche de la spore. On voit aussi des cloisons transversales en voie de formation (*fig. 11*). Dans certains éléments contigus, les ébauches des spores sont parfois situées de part et d'autre de la membrane commune; la position de ces corpuscules rappelle une mitose (*fig. 17, 18*), mais un examen attentif montre que les corpuscules ne se divisent jamais, sans aucun doute. Les ébauches sporogènes se teintent d'une manière homogène avec toutes les méthodes de coloration : chaque corpuscule chromophile donne toujours naissance à une spore; en outre, les individus qui ne sporulent pas ne possèdent pas ce corpuscule. Parfois, la spore adulte fait saillie (*fig. 20*); dans d'autres cas, elle emplit toute la cellule (*fig. 19*).

2° *Enclaves cellulaires :*

On rencontre parfois dans les vacuoles, après fixation au liquide de Lenhossek, très fréquemment après fixation au formol, des granules arrondis se colorant d'une manière inconstante à l'hématoxyline et à la safranine (*fig. 9, 10, 13*). La teinte des enclaves est rouge après coloration au bleu de méthylène : il s'agit donc de corpuscules métachromatiques.

En résumé, on ne rencontre dans le Bacille du charbon qu'une seule formation permanente, l'ébauche de la spore, qui apparaît au sein d'un cytoplasme homogène; la structure complexe, décrite par Penau, n'a pas été retrouvée. Cet unique corpuscule vésiculeux ne se divise jamais et ne se résout pas en granulations chromatiques, contrairement à l'opinion de Penau.

Le cytoplasme du Bacille du charbon possède une chromophilie semblable à celle du cytoplasme des cellules nucléées; on ne peut donc considérer, ainsi que le fait Ruzicka, la cellule bactérienne comme un noyau nu.

On peut remarquer que « l'hyperchromaticité » du Bacille charbonneux, constatée par Ruzicka, pourrait être due à l'acido-résistance. On sait, en effet, que certains Bacilles deviennent acido-résistants lorsqu'ils sont cultivés sur des milieux glycérinés. Quant aux corps « sporoïdes », ils paraissent correspondre aux corpuscules métachromatiques.

Bacillus Subtilis (*tableau 12, fig. 9*)

Trambusti et Galeotti ont décrit un corps central formé par un reticulum contenant les granulations chromatiques.

Amato a constaté dans cette espèce la présence d'un noyau se dissociant en granulations chromatiques qui se condensent ultérieurement et donnent naissance à l'ébauche de la spore.

Guilliermond a montré, en 1908, que le *Bacillus subtilis* possédait des granulations ayant une vive affinité pour les matières colorantes basiques et que la spore paraît se développer à leurs dépens.

Pour Bessuletz, le *Bacillus subtilis* posséderait un noyau typique.

La culture du *Bacillus subtilis* qui a servi à nos recherches provient de l'Institut Pasteur de Tunis. Nous avons surtout examiné les formes d'involution.

On constate après fixations et colorations diverses que la structure des cellules atypiques est semblable à celle des cellules normales et qu'elles possèdent comme ces dernières un cytoplasme alvéolé dans lequel sont incluses des granulations chromophiles.

Bacille de la peste bubonique (*tableau 12, fig. 20-23*)

Nakanischi a décelé dans les cellules de cette espèce un noyau colorable au bleu de méthylène. Sangiorgi est arrivé à la même conclusion par l'emploi de la méthode à l'encre de Chine de Burri.

Les coupes à la paraffine de rate de cobaye faites par M. le docteur Anderson, l'examen de frottis humides de ce Bacille, ont permis de constater : des granulations colorables à la thionine et à l'hématoxyline (*fig. 20*), une grande vacuole située au centre, parfois des corpuscules métachromatiques polaires. Les formes d'involution se divisent. Il nous est impossible d'envisager l'existence du noyau, car on ne rencontre aucun élément qui pourrait être assimilé à telle formation.

Bacille lactique (*tableau 12, fig. 3-5*)

Origine : laboratoire des fermentations de l'Institut Pasteur de Tunis.

Après coloration vitale, on distingue de grosses inclusions graisseuses (*tableau 12, fig. 3*), et après fixation, des précipités de métachromatine (*fig. 5*). Il a été impossible, comme déjà dans le Bacille du charbon, de mettre en évidence des granulations chromatiques.

Bacillus aceti (*tableau 15, fig. 7-19*)

Origine : laboratoire de M. le Professeur Fernbach, à Paris.

Ce Bacille est cultivé, soit à la surface du vin (décoloré au noir animal, dilué à l'eau de 1/3 et additionné de quelques gouttes d'acide acétique), soit sur gélatine. Les formes d'involution apparaissent très rapidement (au bout de quelques jours), quand le Bacille est cultivé sur milieu solide.

Au cours de premières recherches, nous avions constaté dans chaque cellule la présence d'un granule unique sidérophile, colorable en violet par l'hémalun, après fixation au liquide de Lenhossek, ayant par conséquent une certaine ressemblance avec un noyau.

L'étude cytologique a été reprise, et les observations précédentes ont été complétées par de nombreux examens vitaux, post-vitaux, ainsi que par ceux de frottis fixés et colorés; ces méthodes ont conduit aux mêmes constatations.

Si l'on colore vitalement les corps cellulaires avec une solution très diluée de bleus de Nil, de crésyl, on assiste à l'apparition d'un corpuscule pourpre dans chacun des individus d'une chaîne (*tableau 15, fig. 7*). Généralement, le corpuscule est unique par cellule. Après coloration post-vitale, on distingue dans le cytoplasme, teinté en bleu clair, une cavité centrale conservant un granule coloré en rouge. Si l'on colore, après fixation avec le bleu de crésyl, l'hématoxyline, on obtient des images superposables à celles que nous avons vues après coloration post-vitale au bleu de crésyl dilué (*figure 7*). On se trouve donc en présence de figures identiques à celles que nous avons déjà constatées chez les formes rondes, dans les mêmes conditions. On sait, en effet, que les cellules des formes rondes ne possèdent souvent qu'un seul corpuscule métachromatique, entouré d'une auréole claire; on peut donc admettre que celui-ci se trouve dans une vacuole (*fig. 8-10*).

Les formes d'involution contiennent plusieurs corpuscules métachromatiques (*fig. 15*); parfois, la métachromatine est précipitée sur la paroi de la vacuole (*fig. 16*). En général, ces corpuscules remplissent toute la cavité vacuolaire (*fig. 11-14*); dans d'autres cellules, ces corpuscules sont ovoïdes ou allongés; parfois, on ne rencontre qu'un seul corpuscule, qui ressemble superficiellement à un noyau, après coloration à l'hématoxyline.

Cocco-Bacille F (*tableau 12, fig. 10-19*)

Il a été isolé par M. le Docteur Ch. Nicolle. Cette espèce, de type Friedländer, présente les principaux caractères suivants après vingt-

quatre heures de culture sur bouillon alcalin (à l'étuve réglée à 33°) : cellules cérobies de 1-2 μ de long (parfois 3 μ), d'un diamètre très constant voisin de 0,5 μ, possédant une gaine et donnant naissance à des formes d'involution. Les cultures sur gélose sont blanches, visqueuses et présentent un dépôt abondant dans l'eau de condensation.

Il est difficile de distinguer vitalement les éléments figurés de la cellule, même au plus fort grossissement (3.000), par suite de la petitesse de ce microrganisme. Après coloration des liquides iodo-iodurés, on ne constate pas de glycogène : la cellule est colorée d'une manière uniforme en jaune clair.

Après fixation, les cellules colorées ont 0,25-0,3 μ; on est donc à la limite de l'observation possible. On aperçoit une cavité centrale (comme chez le Bacille pesteux et *Bacillus aceti*), des amas de cytoplasme qui présentent quelque ressemblance avec un noyau (*fig. 14-16*), quand les préparations ne sont pas suffisamment régressées; mais il est impossible de faire cette confusion, si l'on examine des préparations à différents états de différenciation.

Les Bacilles aberrants (*fig. 12-14, 15-17*) sont généralement plus volumineux que les cellules normales; ils présentent des aspects divers : formes massues (*fig. 13* et *16*), corps fusiformes minuscules ou très gros (*fig. 17*). Dans certaines formes d'involution (*fig. 15-19*), on rencontre la vacuole que possède toute cellule jeune; parfois, on note la présence de corpuscules métachromatiques aux pôles (*fig. 16*).

Cocco-Bacille G (*tableau 15, fig. 1-4*)

Ce Bacille a été trouvé chez un malade atteint d'une pseudo-diphtérie; il est d'ailleurs différent des pseudo-diphthériques; peut-être s'agit-il d'un saprophyte accidentel. Il a été cultivé sur sérum solidifié à l'étuve réglée à 30°.

Si l'on examine les cellules *in vivo* après vingt-quatre heures de culture, on constate qu'il existe des individus allongés, bacillaires; mais, le type cocco-bacillaire prédomine. Les bâtonnets courts ont 0,5 μ de diamètre et 2,3 μ de long. La coloration post-vitale au bleu de crésyl n'a pas permis de constater des corpuscules métachromatiques. Après fixation (aux liquides de Mèves, de Flemming, de Lenhossek, de Bouin) et coloration au bleu de méthylène, à la safranine et à l'hématoxyline, on observe des *divisions cellulaires très inégales.*

Cocco-Bacilles H (*tableau 14, fig. 1*) et I (*fig. 2*)

Ces deux Cocco-bacilles ont été trouvés dans le dépôt d'une conduite d'eau à Lyon. L'espèce H possède un diamètre de 1 μ; l'autre Cocco-bacille I a une largeur de 2 μ. Les cellules des deux espèces possèdent une zooglée.

Après des fixations diverses, notamment au liquide de Lenhossek,

coloration à l'hématoxyline-érythrosine, nous n'avons pas mis en évidence de noyau ni de corps central. Le cytoplasme, finement alvéolé, renferme des granulations sidérophiles ayant les mêmes caractères histochimiques que celles qui ont été décelées chez le Bacille A.

Cocco-Bacilles J (*tableau 15, fig. 5*) et K (*fig. 6*)

La première Bactérie citée a un diamètre moyen voisin de 2 μ; la seconde, de 1,5 μ. Ils vivent dans le même milieu que les espèces précédemment étudiées. Le Cocco-bacille J est polymorphe : les cellules sont parfois piriformes, tétraédriques, etc.

Ces espèces ont la même structure que celle des Cocco-bacilles H et I.

Autres Bacilles étudiés

Le Bacille pyocyanique (*tableau 12, fig. 8* et *18*), le Bacille dysentérique *Schiga* (*tableau 15, fig. 20*), ont été cultivés sur gélose. Comme chez les Bacilles précédents, nous n'avons pu constater de noyau.

Résumé des faits observés chez les Bacilles

Les Bacilles qui viennent d'être décrits peuvent être divisés en deux groupes : les espèces asporées, d'une part, les espèces endosporées, d'autre part.

Les *espèces asporées* telles que le Bacille lactique, *Bacillus aceti*, le Bacille typhique, le Bacille pyocyanique contiennent des corpuscules métachromatiques, parfois des granulations intracytoplasmiques dont l'ensemble peut être envisagé comme un noyau diffus. Il ressort nettement de ces recherches que la cellule de ces Bactéries ne contient pas de noyau. Ce dernier a été confondu par divers auteurs avec le corpuscule métachromatique unique par cellule (*Bacillus aceti*).

Dans les *espèces endosporées*, il existe un corpuscule sphérique très chromophile, l'ébauche de la spore; parfois, des granulations chromatiques intracytoplasmiques. Un *premier type* de Bacille (présence de granulations chromatiques dans le cytoplasme) évolue de la manière suivante. Le cytoplasme, d'abord homogène, se creuse d'alvéoles (vacuoles et enclaves), puis des granulations chromatiques apparaissent dans toutes les cellules bien avant l'ébauche de la spore : celle-ci s'accroît aux dépens d'un granule ayant une grande affinité pour les matières colorantes basiques, devient un corpuscule sphérique, puis s'entoure d'une membrane. Parfois, on constate l'agglomération de granulations en des amas polaires que la spore englobera. Il est donc légitime d'envisager l'hypothèse que ces granules sont constitués par de la chromatine aux dépens desquels se formera la spore. Cette ébauche de la spore ne se divise pas; elle n'ap-

paraît qu'à la fin de la vie végétative. Par sa chromaticité, sa forme sphérique, elle est comparable à un noyau, mais on ne peut pas l'identifier à tel organe. En effet le noyau est pérennant, et se transmet par mitose de cellule à cellule. De plus, cette formation ne se dissocie pas en granulations; c'est précisément le processus inverse que l'on pourrait envisager.

Le *Bacille du charbon* est cytologiquement caractérisé par l'absence de granulations chromatiques dans le cytoplasme. Il n'existe dans ce Bacille qu'un seul corpuscule chromophile qui ne se divise jamais et ne se résout pas non plus en un système de granulations chromatiques, contrairement à l'opinion de Penau. Nous avons montré que ce corpuscule représente l'ébauche de la spore.

Le Bacille trouvé dans l'intestin du crapaud (Bacille D) a deux spores : il est voisin du *Bacillus flexilis* décrit par Dobell et du *Bacillus Bütschlii* étudié par Schaudinn. Dans le Bacille D, les granulations chromatiques du cytoplasme se rassemblent à chaque pôle en un amas qui constituera l'ébauche de la spore. Nous n'avons pas constaté de cloisonnement avant la sporulation, et par conséquent pas de sexualité.

Les espèces étudiées ne possèdent pas de noyau, mais parfois des granulations chromatiques. Dans les espèces endosporées, le fait que l'ébauche de la spore ressemble à un noyau permet de supposer qu'elle est constituée par de la chromatine qui serait à l'état diffus dans le cytoplasme, parfois différenciée à l'état de granulations dont l'ensemble pourrait être considéré peut-être comme un noyau diffus.

Nos recherches font ressortir que les Bactéries ne possèdent pas de noyau différencié, mais parfois des granulations chromatiques disséminées dans le cytoplasme.

3. SPIRILLES

Les Spirilles ont fait l'objet de travaux divers de la part de nombreux auteurs : les uns, comme Dobell, ont constaté chez ces formes un noyau (*Paraspirillum Veydovskyi*); d'autres, comme Swellengrebel, ont cru discerner un noyau spiralé; enfin, certains cytologistes, comme Guilliermond, admettent que la structure des Spirilles est semblable à celle des Bactéries, et que l'on ne rencontre que des granulations sidérophiles éparses dans le cytoplasme.

Vibrion A (*tableau 13, fig. 10*)

Cette espèce, de 2 μ de large, a été vue dans les dépôts d'une conduite d'eau à Lyon. Après fixations diverses aux liquides de Lenhossek, de Perenyi et coloration à l'hématoxyline-érythrosine, on aperçoit un reticulum cytoplasmique très fin dans lequel sont si-

tuées des granulations sidérophiles. La grande taille de cette espèce a rendu l'observation favorable.

Vibrion B (*tableau 13, fig. 4-6*)

Cette espèce a la même origine que la précédente; le diamètre est en moyenne de 1 µ, et la longueur d'environ 4 µ. Le Vibrion se divise parfois inégalement. Sa structure est semblable à celle du Vibrion précédemment étudié; il présente des formes d'involution qui ont les mêmes caractères cytologiques que les cellules normales (*figure 6*). La division est transversale.

Spirille C (*tableau 13, fig. 13-17*)

Cette espèce a été trouvée dans l'eau de l'un des bassins du Laboratoire de Botanique P. C. N., à Paris. Le diamètre de ce Spirille est de 1 µ; la longueur de 10-15 µ. Le corps cellulaire se divise toujours transversalement et peut se fragmenter en plusieurs individus.

Si l'on colore vitalement ce Spirille avec une solution de bleu de crésyl, on aperçoit bientôt des corpuscules métachromatiques qui paraissent être situés dans les vacuoles. Après coloration post-vitale avec la même substance, on constate dans le cytoplasme, coloré en bleu clair, la présence de granulations teintées en bleu sombre. On a mis aussi en évidence des inclusions de glycogène avec une solution d'iode, qui colore celles-ci en brun acajou.

Après fixation avec divers liquides (de Lenhossek, de Ladowsky, de Perenyi, de Bouin, le formol) et coloration à l'hématoxyline-érythrosine, on constate que le cytoplasme, coloré en rose et alvéolé, contient des granulations sidérophiles. Comme il n'existe qu'une seule rangée de vacuoles dans la cellule, les tractus de cytoplasme ressemblent parfois à une spirale chromatique, si les préparations ne sont pas suffisamment régressées à l'alun de fer. Cet aspect particulier du cytoplasme n'a aucun rapport avec un noyau.

Spirille D (*tableau 13, fig. 11*)

Ce Spirille, de 0,5 µ de diamètre, a été trouvé dans le même milieu et présente les mêmes particularités cytologiques que le précédent.

Spirille E (*tableau 13, fig. 12*)

Cette espèce vit dans le contenu intestinal du crapaud. Après fixation avec le liquide de Lenhossek, coloration au liquide de Giemsa et au bleu de toluidine, nous avons coloré les corpuscules métachromatiques en rouge. Si l'on teinte à l'hématoxyline, on ne discerne pas d'autres éléments figurés que les corpuscules métachromatiques.

Spirochète F (*tableau 14, fig. 15*)

Le Spirochète provient des dépôts de la source sulfureuse de Si-Ahmed-Zeroug (Tunisie). Le diamètre est de 0,3 μ; la longueur d'une spire de 1 μ; la longueur peut atteindre 50-60 μ.

Après fixations diverses et colorations à l'hématoxyline, on se rend compte que le cytoplasme est homogène. La division paraît être longitudinale.

En résumé, tous les Spirilles étudiés ont une structure semblable à celle du *Cocci*, des Bacilles; la plupart des Spirilles possèdent des granulations chromatiques disséminées dans un cytoplasme alvéolé, ne paraissant pas correspondre à des mitochondries : nous avons constaté que, dans une espèce, ces granulations se colorent post-vitalement au bleu de crésyl.

4. CORYNÉBACTÉRIES ET MYCOBACTÉRIES

Les Corynébactéries (groupe du Bacille diphtérique) ne sont pas acido-résistantes, ce qui permet de les distinguer des Mycobactéries groupe des Bacilles tuberculeux, paratuberculeux, Bacille de la lèpre, etc.).

Bacille diphtérique long (*tableau 16, fig. 10-13*)

On a pensé que le Bacille diphtérique serait voisin des Champignons, car il se ramifie comme ceux-ci. Les ramifications ont été décrites par différents auteurs, notamment par Abbott, qui a constaté que le Bacille se ramifie lorsque le milieu de culture contient des peptones et du glucose. Martin a obtenu des formes ramifiées du Bacille diphtérique après avoir ensemencé celui-ci sur du bouillon recouvert d'huile; le voile se développe à la surface de séparation des deux liquides. Martin a vérifié que ces formes ramifiées reprennent leur aspect initial, le type bacillaire, lorsqu'on les repique sur le milieu ordinaire (sérum solidifié).

Les granulations chromophiles qui ont été décrites dans le Bacille diphtérique sont des corpuscules métachromatiques.

Babès découvrit dans le Bacille diphtérique des corpuscules, colorables en rouge par les bleus d'aniline, qu'il désigna sous le nom de corpuscules métachromatiques. Ernst, peu après, constata des granulations métachromatiques chez un grand nombre d'espèces dont le Bacille diphtérique. Ernst et Babès croyaient à la nature sporogène de ces granulations, mais ils abandonnèrent ultérieurement cette conception.

Guilliermond identifia les corpuscules métachromatiques des Bac-

téries à ceux qu'il a décelés chez les Levures et montra que les corpuscules métachromatiques sont des formations absolument distinctes des noyaux. Beauverie constata que chez le Bacille diphtérique les granulations d'Ernst, de Babès sont identiques aux corpuscules métachromatiques dont Guilliermond a indiqué les principaux caractères.

Le Bacille diphtérique qui a servi à nos recherches provient d'une culture pure du laboratoire de M. le Professeur F. Arloing, à Lyon. Le Bacille a été cultivé sur sérum coagulé à l'étuve à 38°.

Nous avons coloré vitalement le Bacille diphtérique (âgé de vingt-quatre-heures, quarante-huit heures, trois jours) avec une solution de bleu de Nil; au bout de quelques minutes les corpuscules métachromatiques sont colorés en rouge (1). Après coloration vitale, nous n'avons pas constaté dans le corps cellulaire d'autres éléments figurés (*tableau 16, fig. 10*).

Après fixation avec les liquides de Bouin, de Lenhossek, de Flemming, et coloration à l'hématoxyline, nous avons observé des granulations sidérophiles semblables aux corpuscules métachromatiques mis en évidence, soit post-vitalement au bleu de Nil, de crésyl, soit après fixation au liquide de Lenhossek et coloration au bleu de crésyl. Le cytoplasme ne contient pas de granulations chromatiques, ni de noyau (*fig. 11*).

Les formes d'involution (Bacilles ramifiés, cellules en forme de massue) présentent les mêmes caractères que les formes normales; chez les unes et les autres, on ne rencontre pas non plus de noyau (*fig. 12* et *13*).

Le rapprochement du Bacille diphtérique avec les Champignons est donc très contestable.

Le *Bacille diphtérique moyen* a les mêmes particularités que le Bacille diphtérique long. Il ne possède pas davantage de noyau ni de granulations chromatiques.

Bacilles tuberculeux humain et paratuberculeux

Le Bacille tuberculeux (*tableau 66, fig. 1-7*)

Nous examinerons les principaux travaux dont ce Bacille a été l'objet; nous envisagerons successivement les faits d'ordre chimique concernant le Bacille de Koch; les éléments figurés rencontrés dans ce Bacille par les auteurs qui nous ont précédé; enfin, les données sur la morphologie générale de ce microrganisme.

---

(1) Nous tenons à souligner ce point : en effet, cette possibilité de mettre facilement en évidence, par une coloration vitale rapide, les corpuscules métachromatiques du Bacille diphtérique, rend inutile l'emploi de la méthode préconisée par Neisser pour la détection de ces éléments, méthode décrite dans tous les traités de Bactériologie et que sa complication rendait d'une exécution vraiment un peu difficile.

1° *Renseignements d'ordre chimique.* Le Bacille tuberculeux se colore intensément avec l'hématoxyline, les couleurs basiques, etc. Il est acido-résistant. Cette forte chromaticité, l'acido-résistance ont été attribuées par certains auteurs à la présence de matières grasses qui gênent considérablement la mise en évidence des éléments figurés du cytoplasme. Aussi est-il nécessaire de préciser la nature de ces substances et de faire connaître les procédés employés pour les éliminer.

Camus, par exemple, constate que les acides gras isolés du Bacille tuberculeux sont acido-résistants; il vérifie, en outre, que certains acides (acide laurique, acide palmitique, acide stéarique) sont acido-résistants *in vitro.*

Goris étudie les composés conférant l'acido-résistance et analyse un kilogramme de Bacilles tuberculeux par la méthode suivante :

1° L'épuisement à chaud du Bacille tuberculeux par le chloroforme fournit : une partie insoluble dans l'éther, acido-résistante (décelée par ailleurs dans le Bacille de la lèpre ; une partie soluble dans l'éther, colorée en rouge, composée de phosphatides;

2° L'épuisement du reliquat (provenant de l'épuisement chloroformique par l'alcool absolu) permet d'isoler une cire;

3° L'épuisement du Bacille par l'eau fournit des albuminoïdes, des acides aminés et des nucléoprotéides. Ces dernières posséderaient, selon Goris, les mêmes propriétés physiologiques que la tuberculine.

L'acido-résistance est due aux substances graisseuses, acides gras, et aux cires.

Frouin et Guillaume se rangent à cette opinion, bien qu'ils pensent qu'il ne se rencontre pas d'acides gras dans le Bacille; en effet, si l'on épuise à froid les Bacilles par l'acétone, on ne trouve pas d'acides gras dans l'extrait; ceux-ci résulteraient, d'après ces auteurs, de l'hydrolyse des glycérides sous l'effet de l'épuisement à chaud.

Pour Ciaccio, le Bacille tuberculeux conserve l'acido-résistance, malgré un traitement par l'éther, le xylol, l'alcool absolu, respectivement pendant des durées de une heure, huit heures et une heure.

Les recherches citées, à l'exception de celles de Ciaccio, tendent à démontrer que l'acido-résistance est en relation avec la présence de substances grasses; aussi bien a-t-il été établi que les acides gras sont acido-résistants *in vitro.* D'autre part, nous avons constaté que l'épuisement des Bacilles à froid par le chloroforme, par l'éther, diminue fortement l'acido-résistance. Cette opinion est corroborée par le fait, observé par Vaudremer, que l'acido-résistance disparaît si l'on cultive le Bacille dans les milieux dépourvus de glycérine, et qu'elle réapparaît dès que l'on ajoute cette substance au milieu. Or, on sait par ailleurs que la glycérine peut servir à la synthèse des graisses neutres et des phosphatides.

2° *Eléments figurés du Bacille tuberculeux.*

Granulations de Much. Much a mis en évidence dans le Bacille tuberculeux des granulations par le procédé suivant : il colore pendant quarante-huit heures avec la solution :

Solution alcoolique saturée de violet de méthyle, 10 cm3;
Solution d'acide phénique à 2 %, 100 cm3.

Puis on traite par la solution iodo-iodurée (iode 1 gr., iodure de potassium 2 gr., eau distillée 200 cm3) pendant cinq minutes. La différenciation est effectuée successivement à l'acide azotique à 5 % pendant une minute, l'acide chlorhydrique à 3 % pendant dix secondes; enfin, dans un mélange d'alcool et d'acétone (parties égales).

Les granulations sont séparées par des espaces clairs.

Pour Kirchensteins, les granulations de Much représentent des corpuscules métachromatiques qu'il considère comme des granules de substance nucléaire, des noyaux qui sont susceptibles de donner naissance à de nouveaux Bacilles (lorsqu'ils deviennent extracellulaires).

Calmette pense qu'il s'agit de portions cytoplasmiques surcolorées ou d'enclaves de nature graisseuse.

Corpuscule central. Nakanischi, après fixation du Bacille tuberculeux dans le formol et coloration avec le bleu de méthylène, constate la présence d'un corpuscule, situé dans la région médiane, qu'il considère comme un noyau.

Ce corpuscule paraît avoir été trouvé par Fontès. Cet auteur colore d'abord ce Bacille par la méthode de Ziehl, puis le kristall-violet phéniqué, ensuite il traite les préparations par la solution iodo-iodurée (formule déjà citée) et différencie par un mélange à parties égales d'alcool et d'acétone; enfin, il teinte au bleu de méthylène. Fontès serait parvenu de cette manière à mettre en évidence une membrane colorable en rouge par la fuchsine, des granulations se teintant en violet, d'autant plus nombreuses que le Bacille est plus âgé; les Bacilles jeunes ne renferment qu'une seule granulation chromophile.

Ce fait a été aussi constaté par Kirchensteins.

Granulations diverses. Bezançon et Philibert colorent des coupes de cultures du Bacille tuberculeux inclus à la paraffine et distinguent dans le corps bacillaire : une membrane cyanophile se décolorant par la méthode de Ziehl; un cytoplasme fuchsinophile contenant des granulations teintées en violet par le violet de gentiane, et qui sont situées, soit dans la cellule, soit hors de celle-ci.

Récemment, Darsine emploie la méthode de Levaditi, modifiée par Fontana et par Tribondeau; on fixe dans le liquide formolé (acide acétique 1 cm3, formol 2 cm3, eau distillée 100), on lave rapidement à l'alcool absolu, on sèche, puis on mordance au tanin à 5 % pendant une demi-minute sur la platine chauffante, on lave à l'eau distillée, et recouvre avec la solution de nitrate d'argent à 1 %,

pendant un quart d'heure, à chaud, puis on lave de nouveau à l'eau distillée. Darsine constate que le corps bacillaire, teinté en jaune clair, possède des corpuscules colorés en noir.

Corpuscules métachromatiques. Babès, Ernst et beaucoup d'auteurs ont mis en évidence des corpuscules métachromatiques chez le Bacille tuberculeux.

3° *Morphologie du Bacille tuberculeux.* Le Bacille tuberculeux se présente, dans les crachats ou dans les cultures, sous l'aspect d'un bâtonnet de 0,5 μ de diamètre environ, à extrémités arrondies. La longueur est très variable. En outre de cette forme typique, le Bacille tuberculeux possède des formes granuleuses. Les cellules filamenteuses, les formes en massues peuvent être rapprochées des formes d'involution des Bactéries.

Weill a constaté l'apparition de formes granuleuses après avoir exposé les cultures du Bacille typique à la radiation ultra-violette. Les formes granuleuses ont été constatées dans le fond des tubes de culture sur bouillon glycériné, y constituant un dépôt. Selon Fontès, ces éléments cellulaires granuleux proviennent de la désintégration du Bacille typique.

Les formes d'involution (filaments terminés en massues), qui rappellent certains aspects des *Actinomyces*, ont été observées par Metchnikoff, Nocard et Roux dans les vieilles cultures. Arloing a obtenu les formes filamenteuses en cultivant le Bacille tuberculeux à la température de 45°, qui dépasse de 7° la température de croissance optima. Babès et Levaditi ont provoqué l'apparition de formes en massues en inoculant le Bacille tuberculeux typique dans le cerveau de lapin. Enfin, Péju et Rajat ont constaté la présence de cellules ramifiées, de formes en massues, après ensemencement du Bacille typique sur des bouillons renfermant 4 % de chlorure de potassium.

Certains auteurs (Vaudremer, Valtis, Calmette, etc.) ont signalé que le Bacille tuberculeux présentait des formes invisibles susceptibles de traverser le filtre Chamberland.

Dans l'étude de ce Bacille, nous nous sommes proposé de rechercher s'il possédait un noyau et s'il doit être rangé dans le groupe des Champignons.

Recherches personnelles sur le Bacille tuberculeux

Nous avons examiné des Bacilles tuberculeux de différentes origines; le Bacille classique de Koch provenant de l'Institut Pasteur de Tunis; une culture homogène de F. Arloing (1); des Bacilles conte-

(1) F. Arloing a obtenu des cultures homogènes, c'est-à-dire produisant un trouble homogène du milieu en ensemençant le Bacille dans un ballon, contenant du bouillon glycériné, qu'on a soin d'agiter tous les jours. Après un certain nombre de passages, la culture devient plus précoce. Le Bacille tuberculeux des cultures homogènes se distingue des Bacilles de Koch en ce qu'il est légèrement mobile.

nus dans la sérosité pleurale d'un malade atteint de pleurésie tuberculeuse.

Dans des essais initiaux, nous avons rencontré de grandes difficultés à colorer le Bacille tuberculeux avec les méthodes cytologiques exposées dans la « technique »; les renseignements chimiques nous ont été très utiles, car ils nous ont appris que la chromaticité du Bacille, son acido-résistance résultent de la présence de matières grasses, dont nous nous occuperons en premier lieu.

a) *Matières grasses; acido-résistance.* Le Bacille tuberculeux a été coloré d'une manière uniforme par le Soudan III, soit post-vitalement, soit après fixation au formol; on a constaté qu'il réduisait l'acide osmique après environ un quart d'heure, sans que l'on puisse discerner une localisation des graisses. Nous avons coloré aussi par la méthode de Fischler dans le but de rechercher les acides gras. On mordance les frottis humides pendant vingt-quatre heures dans une solution saturée d'acétate de cuivre; après un lavage rapide, on colore pendant vingt minutes dans l'hématoxyline à la lithine (solution d'hématoxyline à 10 % dans l'alcool absolu 10 cm., mélangée au moment de l'emploi avec son volume d'une solution de carbonate de lithium à 10 %) : la différenciation se fait avec le mélange de Weigert (mélange à parties égales de borax à 4 % dans l'eau distillée et de ferricyanure de potassium à 5 % dans l'eau distillée).

Cette méthode n'a pas permis de mettre en évidence des acides gras figurés; s'ils existent, ils se trouvent à l'état diffus dans les cellules

Nous avons constaté par l'emploi de la méthode de Ziehl que l'acido-résistance est peu sensible si l'on traite des frottis humides, à froid, successivement par le chloroforme (10 jours), puis à l'éther anhydre (10 jours) et l'alcool absolu (10 jours). D'autre part, ces Bacilles, ainsi traités, ne se colorent plus au Soudan III et à l'acide osmique, ce qui prouve que la majeure partie des graisses a été éliminée. En raison de tous ces faits, nous avons pensé qu'il était préférable de procéder à l'élimination des graisses après la fixation.

b) *Corpuscule central.* Après fixations diverses, principalement au liquide de Lenhossek, élimination des graisses et coloration à l'hématoxyline ferrique-érythrosine, nous avons observé, dans des cultures âgées d'un mois, la présence de Bacilles possédant un corpuscule central, coloré intensément en noir, situé dans un cytoplasme homogène, teinté en rose par l'érythrosine (*tableau 16, figures 1-2*). Ce corpuscule a été aussi constaté par l'emploi d'une autre méthode : on fixe au liquide de Flemming ou à l'acide osmique, on traite par le chloroforme, l'éther, l'alcool absolu, puis par l'essence de térébenthine, pendant vingt-quatre heures, afin d'éliminer les graisses osmiées, enfin on colore à la safranine pendant vingt-quatre heures.

Soit au moyen de la coloration à la safranine, soit avec l'hématoxyline, on constate la présence d'un ou deux corpuscules sphériques, très chromophiles, dans beaucoup de cellules.

Nous basant sur ce fait que l'acide osmique ne permet pas généralement la coloration ultérieure des corpuscules métachromatiques et, d'autre part, sur le fait que ces derniers sont généralement au nombre de plusieurs par cellule (après coloration au bleu de métylène), nous avons émis l'hypothèse que le corpuscule central pourrait être un noyau.

c) *Nature du corpuscule central; corpuscules métachromatiques.* Pour résoudre cette importante question, nous avons entrepris une série d'essais systématiques pour vérifier si le corpuscule central est bien différent d'un corpuscule métachromatique. Certaines cellules ne renferment, en effet, qu'un corpuscule métachromatique (par exemple certains *Cocci*, le *Bacillus aceti*).

Nous avons procédé à des fixations suivies ou non du traitement suivant, destiné à éliminer une importante fraction des graisses : on immerge pendant une heure, successivement dans l'alcool absolu, l'alcool méthylique, l'éther anhydre, le chloroforme, les frottis préalablement fixés. Après, on colore avec le bleu de toluidine, l'hématoxyline ferrique-érythrosine. Le tableau suivant montre le comportement des granulations métachromatiques de certaines cellules, et celui du corps central (1) :

Fixation aux liquides	Elimination des graisses (par l'éther, le chloroforme, etc.).	Coloration	Teinte du corpuscule central	Teinte des corpuscules métachromatiques
1. Lenhossek	»	Hématoxyline ferrique-érythrosine	Noire	Noire
2. id.	+	id.	id.	id.
3. Formol à 40 %	»	Bleu de toluidine à 1 %	Rouge-violet	Rouge
4. id.	+	id.	id.	id.
5. Id. et mordançage à l'alun de fer pendant 24h	»	id.	Bleu-violet.	Violet-bleu
6. Formol à 40 %	+	id.	id.	id.
7. id.	»	Hématoxyline ferrique	Noire	Noire
8. id.	+	id.	id.	id.
9. Perenyi	»	id.	id.	id.
10. id.	+	id.	id.	id.
11. id.	+	Bleu de toluidine	Bleu-violet	Violet-bleu
12. Mèves	+	id.	Rouge-violet	Rouge-violet
13. id.	+	Safranine.	Rouge	Rouge
14. Helly	»	Hématoxyline ferrique	Coloration uniforme	
15. Regaud	+	Vert Janus-érythrosine		
16. id.	+	Bleu de toluidine		
17. id.	+	Hématoxyline ferrique		

(1) Dans certaines cultures sur pomme de terre glycérinée, du Bacille de Koch, nous avons constaté la présence d'un corpuscule unique dans toutes les cellules. Nous n'avons pas retrouvé ultérieurement cette particularité.

Nous constatons que le corpuscule central présente les mêmes caractères histochimiques que les corpuscules métachromatiques. On doit par conséquent le considérer comme tel; d'ailleurs, nous n'avons jamais pu observer sa division.

Nous remarquons que les corpuscules métachromatiques peuvent être colorables par l'hématoxyline, le bleu de toluidine, après fixation aux liquides de Regaud, de Perenyi, de Mèves; ils peuvent être teintés au vert Janus, à la safranine, après fixation aux liquides de Regaud et de Helly, contrairement à ce que l'on a souvent observé.

Nous insistons sur la particularité suivante : si l'on mordance ou traite les frottis par les solvants des graisses, les corpuscules métachromatiques ne se teintent pas en rouge, mais en bleu-violet, avec le bleu de toluidine (méthodes 5, 6, 11).

En résumé, nos recherches démontrent que le Bacille tuberculeux ne possède pas de noyau, que le corpuscule central représente un corpuscule métachromatique.

Bacille paratuberculeux (Bacille du *smegma*)

La culture mère provient de l'Institut Pasteur de Tunis. Nous avons cultivé ce Bacille sur pomme de terre glycérinée à l'étuve à 38°.

Le Bacille paratuberculeux se distingue du Bacille tuberculeux par sa croissance plus rapide, sa taille plus petite (1).

Après fixation au liquide de Lenhossek, élimination des graisses, coloration à l'hématoxyline (selon les processus qui ont été décrits lors de l'étude du Bacille tuberculeux, paragraphe « corpuscule central »), on distingue dans toute cellule un corpuscule central coloré en noir, qui ne paraît pas correspondre à un corpuscule métachromatique, car, si l'on colore au bleu de méthylène, après fixation au formol, on ne distingue pas de corpuscules métachromatiques. Mais nous n'avons pu résoudre cette question en raison de la petitesse des images.

5. ACTINOMYCÈTES

Neukirch a observé dans les *Actinomyces* la présence de corpuscules colorables, en rouge, par le bleu de méthylène, l'hématoxyline, mais il ne se prononce pas sur la signification morphologique de ces formations. Protopopoff assimile les granulations chromophiles des *Actinomyces* à des noyaux.

Pour Vuillemin, ces microrganismes ont un thalle siphonal, continu, dépourvu de noyaux.

---

(1) Nous avons constaté que le Bacille paratuberculeux ne contient généralement pas de corpuscules métachromatiques.

Dreschler donne des renseignements précis sur la structure et les affinités des *Actinomyces*. Cet auteur constate que le thalle est composé d'un mycelium cloisonné et nucléé. Les conidies sont aussi pourvues d'un noyau.

Les espèces étudiées proviennent en général du laboratoire de M. le Docteur Ota, à l'exception du *Discomyces* A qui nous a été envoyé de l'Institut Pasteur de Paris. Les appellations d'origine sont conservées. Les espèces ont été cultivées à 38°, sur pomme de terre glycérinée, ou sur bouillon glycériné.

Discomyces A (*tableau 20, fig. 1-2*)

In vivo, nous constatons que les filaments principaux ont un diamètre double (1 μ) de celui des filaments secondaires, et sont parfois recourbés en forme de crosse. Certains filaments n'ont que 0,25 μ de diamètre.

Après coloration post-vitale avec une solution de bleu de Nil, nous avons distingué la présence de cloisons partageant le filament en une série de cellules qui contiennent un ou deux corpuscules colorables en bleu sombre. Les granulations ne correspondent pas à des corpuscules métachromatiques, qui prennent, comme on le sait, une teinte rouge vif au contact de ce colorant.

L'observation des filaments fixés et colorés est rendue difficile par suite de l'existence de très nombreux corpuscules métachromatiques, colorables en rouge par la méthode de Giemsa, et en noir par l'hématoxyline.

Il est cependant possible de trouver quelques filaments contenant peu de corpuscules métachromatiques, et constituant un matériel favorable à l'étude.

Dans de tels filaments, nous sommes parvenu, après fixation au liquide de Perenyi et coloration par la méthode de Giemsa, à mettre en évidence des corpuscules sphériques, teintés en bleu, qui ressemblent à des noyaux. Comme nous n'avons pu observer la présence de ces corpuscules chromatiques que dans certains cas, nous ne pouvons pas nous prononcer définitivement sur leur signification morphologique.

Actinomyces n° 1 (*tableau 19, fig. 4-15*)

Après fixation au liquide de Perenyi et coloration par la méthode de Giemsa (*fig. 4*), on voit que le cytoplasme des filaments, coloré en rose, renferme des corpuscules teintés en bleu sombre (*fig. 4-8*).

Au cours de la formation des conidies, ces corpuscules paraissent émigrer dans ces dernières (1).

(1) Les conidies sont situées isolément sur les filaments ou assemblées en chapelet à l'extrémité de ceux-ci.

Ces corpuscules, colorables en noir par l'hématoxyline après fixation aux liquides de Flemming, de Perenyi (*fig. 12, 14*), ne paraissent pas correspondre à des corpuscules métachromatiques; ces derniers, très abondants, sont colorés en rouge par la méthode de Giemsa.

Ajoutons cependant que ces corpuscules n'ont pas été retrouvés, soit à l'observation post-vitale au bleu de Nil, soit après fixation aux liquides de Bouin, de Lenhossek, coloration à l'hématoxyline et à la safranine.

Actinomyces n° 61 (*tableau 18*)

Les filaments cloisonnés ont un diamètre moyen de 1 μ (parfois de 0,2-0,5 μ); ils portent des conidies disposées en chapelet.

Après coloration post-vitale au bleu de Nil, on décèle de très nombreux corpuscules métachromatiques qui occupent parfois la plus grande partie des cellules (*fig. 12*). Dans les conidies, on observe un corpuscule central sphérique, coloré en bleu.

Après fixation au formol, coloration au bleu de toluidine, on ne distingue que les corpuscules métachromatiques colorés en rouge (*fig. 11*). Si l'on emploie le liquide de Perenyi et la méthode de Giemsa, on discerne un corps sphérique, teinté en bleu, qui correspond à celui que nous avons trouvé au cours de l'observation post-vitale avec le bleu de Nil dilué, et qui est différent d'un corpuscule métachromatique puisqu'il n'offre pas les réactions histochimiques de ces corps (*fig. 3, 9, 13, 16, 18*). Ces corpuscules chromophiles sont visibles aussi dans les filaments et les conidies après fixation aux liquides de Perenyi, de Flemming, coloration à l'hématoxyline (*fig. 10*).

Actinomices hominis (*tableau 19, fig. 1-3*)

On rencontre dans les cultures des filaments non cloisonnés, assez longs, et des filaments cloisonnés. A l'observation post-vitale au bleu de Nil, après fixation et coloration au bleu de toluidine, on observe une grande quantité de métachromatine condensée (*fig. 2*).

Après fixation au liquide de Flemming et coloration à l'hématoxyline, les corpuscules métachromatiques, observés dans les espèces d'*Actinomyces* précédemment étudiées, n'ont pas été retrouvés. Les formes d'involution ont un cytoplasme alvéolé.

Actinomyces bovis (*tableau 16, fig. 14-17*)

Les filaments sont si ténus qu'il n'a pas été possible de les étudier au point de vue cytologique, mais les formes d'involution en massue constituent un matériel favorable à l'observation. Après fixation au formol, coloration au bleu de toluidine, on observe un cytoplasme, coloré en bleu clair, renfermant un ou deux corpuscules métachromatiques par cellule (*fig. 16*).

Nous n'avons pu constater dans les formes d'involution de l'*Actinomyces bovis* la présence de noyaux.

Actinomyces B (*tableau 17, fig. 1-6*)

Si l'on colore post-vitalement les cellules de ces *Actinomyces* au bleu de Nil, on observe des granulations teintées en bleu, régulièrement espacées (*fig. 2-3*). Ces formations n'ont pas été vues après des fixations diverses (liquides de Lenhossek, de Bouin) et coloration à l'hématoxyline. Il est difficile d'observer la structure des filaments fixés, car ceux-ci sont de petit diamètre (0,25 μ).

Cladothrix astéroïdes (Eppingeri)

Les filaments ont un diamètre de 0,6-0,8 μ : s'ils sont cultivés sur le bouillon glycériné, ils bourgeonnent et donnent naissance à des formes globuleuses (*tableau 17, fig. 7-11*). Après fixation au liquide de Perenyi et coloration par la méthode de Giemsa, on observe dans beaucoup de cellules un corpuscule sphérique, coloré en bleu, qui paraît correspondre à un noyau (*fig. 10-11*).

Streptothrix maduræ (*tableau 17, fig. 12*)

Nous n'avons étudié que les formes d'involution. Nous ne sommes pas parvenu à distinguer un noyau en employant différentes méthodes de fixation (liquides de Lenhossek, de Flemming et de coloration (safranine, hématoxyline).

Actinomyces C (*tableau 19, fig. 16*)

Il a été trouvé dans l'eau courante à Tunis. Le mycelium est cloisonné; il possède des corpuscules qui ne sont pas colorables en rouge par le Giemsa. Il n'a pas de conidies.

En résumé, toutes les espèces d'Actinomycètes étudiées possèdent des formes cloisonnées. En outre des corpuscules métachromatiques, qui sont très abondants, on rencontre dans les cellules une ou deux granulations colorables en bleu, par la teinture de Giemsa, et en noir, par l'hématoxyline. La présence de ces corpuscules (qui ressemblent à des noyaux) n'a été constatée dans les filaments que dans certains cas (quand les corpuscules métachromatiques sont peu abondants). Nous devons toutefois faire remarquer que ces corpuscules sphériques n'ont pas été colorés à l'hématoxyline, après fixation au liquide de Lenhossek, et à la safranine, après fixation au liquide de Flemming.

Dans les conidies, on a constaté, dans certaines espèces (*Actinomyces n° 1*, *Actinomyces n° 61*), au moyen des mêmes méthodes, la

présence d'un corpuscule (colorable au bleu par la méthode de Giemsa) ayant les mêmes caractères de chromaticité que les corpuscules des filaments.

Certaines espèces (l'*Actinomyces bovis*) paraissent être dépourvues de noyaux.

6. BACTÉRIES FILAMENTEUSES

Les cellules ont un diamètre variant d'une manière continue d'une cellule à l'autre; quelques espèces possèdent une gaine commune à toutes les cellules. Chaque élément d'un filament possède la forme bacillaire typique. On n'observe jamais de bourgeonnement cellulaire.

Bactérie filamenteuse A (*tableau 5, fig. 1-6*)

Cette espèce a été trouvée dans un des bassins du Laboratoire de Botanique P. C. N. à Paris. Le diamètre de cette espèce est variable, en moyenne de 2,5 μ (de 1 μ à 5 μ); chaque cellule est entourée d'une gaine. On rencontre dans un filament des formes bacillaires, cocco-bacillaires, rondes; ce sont les individus globuleux qui présentent les plus grandes dimensions. Ce Bacille n'a pas d'arthrospores.

Si l'on colore vitalement cette Bactérie au « nadi », on remarque de nombreuses inclusions graisseuses dans toutes les cellules (*fig. 6*). Après coloration post-vitale avec le bleu de crésyl, nous observons que les mailles cytoplasmiques prennent une teinte bleue; on aperçoit à ce moment que les corpuscules métachromatiques sont situés dans les vacuoles. D'après ce que nous savons sur la métachromatine, nous admettrons que celle-ci existait en solution colloïdale. Chez ce Bacille, les précipités de métachromatine s'accolent parfois sur la paroi de la vacuole et prennent alors une forme de croissant. Nos recherches établissent que les corpuscules métachromatiques des Bactéries sont d'origine vacuolaire (*fig. 5*).

Ce fait n'avait pas encore été mis en évidence dans les Bactéries, car la petitesse des images que l'on constate chez la plupart des espèces ne permettait pas de localiser avec sûreté les corpuscules métachromatiques, et on ne savait pas s'ils se trouvaient dans le cytoplasme ou dans les vacuoles.

Ces recherches sont en harmonie avec celles de Guilliermond et de P.-A. Dangeard, sur l'origine vacuolaire de la métachromatine chez les Algues et les Champignons.

Après fixation au formol et coloration au bleu de crésyl, on obtient les mêmes images : un cytoplasme coloré en bleu et des précipités de métachromatine intravacuolaires, granuleux, ou en forme de croissant.

Après fixation aux liquides de Ladowsky, de Lenhossek et coloration à l'hématoxyline ferrique-érythrosine, on voit, dans un cyto-

plasme alvéolé, coloré en rose par l'érythrosine, des granulations sidérophiles (*fig. 1, 2, 3*). Les corpuscules métachromatiques sont parfois colorés par l'hématoxyline, mais ils se distinguent des granulations sidérophiles par leur teinte rougeâtre et par le fait qu'ils sont souvent entourés par une auréole incolore (vacuole).

Bactérie filamenteuse B (*tableau 4, fig. 5-9*)

Cette espèce a été trouvée dans la source sulfureuse de Si-Ahmed-Zeroug, près de Gafsa.

Les Bacilles, de forme cylindrique, ont un diamètre moyen de 1-5 µ.

Après fixation au formol, coloration au Soudan III, on observe la présence d'inclusions graisseuses. Des granulations latérales opposées, ou ébauches de cloisons que nous avons déjà constatées dans le Bacille endosporé A, sont imprégnées aussi de substances grasses (*fig. 8*), car elles sont colorées, comme les inclusions graisseuses, en rouge brique.

Après fixation au formol, coloration au bleu de toluidine, on constate dans les cellules la présence de corpuscules métachromatiques, colorés en rouge, et autour desquels il n'existe pas d'auréole claire. Ces grains varient quant à leurs dimensions et à leur nombre (*fig. 5, 6, 7*); quelques-uns peuvent être situés aux pôles de la cellule.

Après fixation aux liquides de Lenhossek, de Zenker, de Bouin, au formol, coloration à l'hématoxyline, nous sommes parvenu à différencier des granulations sidérophiles disséminées dans le cytoplasme (*fig. 9*).

Bactérie filamenteuse C (*tableau 4, fig. 1-4*)

Ce Bacille a été trouvé dans une conduite d'eau à Lyon; le thalle est formé d'une file de cellules entourées d'une gaine commune; le diamètre des cellules est généralement de 2 µ (parfois de 0,5 à 2 µ); on ne constate pas d'arthrospores, ni d'endospores.

Après fixation au formol et coloration au bleu de crésyl, au bleu de Unna, on distingue quelques corpuscules métachromatiques (*figure 4*). Après fixation au liquide de Lenhossek et coloration à l'hématoxyline ferrique-érythrosine, on aperçoit un cytoplasme spumeux, coloré en rose par l'érythrosine et des granulations sidérophiles intensément colorées (*fig. 1* et *2*). La formation des cloisons transversales s'effectue par soudure en un disque de deux granulations chromophiles situées l'une en face de l'autre; le disque se clive et sépare les deux cellules sœurs.

Bactérie filamenteuse D (*tableau 5, fig. 7-10*)

Cette Bactérie a été trouvée dans l'eau d'un bassin du Laboratoire de Botanique P. C. N. à Paris.

Les cellules sont entourées d'une gaine très épaisse de 1 µ.

Après fixations diverses avec les liquides de Ladowsky, de Lenhossek et coloration à l'hématoxyline-érythrosine, le cytoplasme apparaît sous forme de septa perpendiculaires à la paroi. Le cytoplasme possède des granulations colorées en noir (*fig. 8*). Signalons que, par suite de l'existence d'une seule rangée de vacuoles, le cytoplasme peut simuler une spirale chromophile (*fig. 9* et *10*) quand les préparations ne sont pas suffisamment régressées.

Bactérie filamenteuse E (*tableau 7, fig. 1-3*)

Cette Bactérie a été trouvée dans le contenu intestinal du *Platydactylus mauritanicus*. Le diamètre du filament est de 0,25 µ. Après fixation aux liquides de Flemming, de Lenhossek, coloration à l'hématoxyline, au colorant de Giemsa, nous n'avons pas pu mettre en évidence des granulations chromatiques.

Autre Bactérie filamenteuse (*tableau 5, fig. 11-12*)

Elle a été trouvée dans l'eau croupie, à Lyon; elle présente les mêmes caractères cytologiques que les Bactéries B, C.

En résumé, nous avons constaté, chez les Bactéries filamenteuses étudiées, la présence d'éléments figurés différents.

Nous avons mis en évidence dans les Bacilles A et B des corpuscules métachromatiques.

Dans l'espèce A, nous avons vu que la métachromatine préexiste en solution colloïdale dans la vacuole, et qu'elle est précipitée, sous l'influence du bleu de crésyl, à l'état de corpuscules colorés en rouge. Nos observations ont établi que les corpuscules métachromatiques sont d'origine vacuolaire chez les Bactéries.

Nous avons aussi observé dans la plupart des espèces étudiées la présence de granulations sidérophiles disséminées dans le cytoplasme, mais nous n'avons pu discerner ni noyau, ni corps central.

7. SULFURAIRES

L'étude cytologique des Sulfuraires est très importante au point de vue de la Morphologie générale. La plupart de ces formes offrent une ressemblance évidente avec les Algues inférieures; aussi importe-t-il de préciser la situation taxinomique de ces organismes, vis-à-vis des Bactéries précédemment étudiées et vis-à-vis des Algues inférieures, et de se rendre compte si les Sulfuraires possèdent un corps central, comme le pensent Bütschli, Mitrophanow, P.-A. Dangeard, ou si elles doivent être considérées comme des Bactéries typiques, c'est-à-dire si elles sont dépourvues du corps central

ou de noyau, ainsi que l'affirment Fourment, Guilliermond, Hinze, Nadson, Virieux, qui ont mis en évidence un système de granulations chromatiques éparses dans le cytoplasme, et dont leur ensemble est envisagé à titre d'hypothèse par ces auteurs comme un noyau.

Beggiatoa alba (*tableau 2, fig. 12, 13; tableau 3, fig. 1-7*)

Les espèces étudiées ont été trouvées dans l'eau d'un des bassins du Laboratoire de Botanique P. C. N. à Paris, à l'exception du *Chromatium Okeni*, qui provient du bassin du Laboratoire de Zoologie de l'Ecole Normale supérieure, où nous devons à l'obligeance de M. le Professeur R. Lévy d'avoir pu le recueillir en grande quantité.

Cette espèce a fait l'objet de travaux antérieurs de la part de Butschli (1890). Cet auteur a décelé dans cette espèce un corps central semblable à celui des Cyanophycées.

L'étude de Bütschli fut critiquée par Fischer (1804) au sujet des *Beggiatoa* et d'autres espèces (*Chromatium Okeni*, *Bacterium lineola*, etc.), chez lesquelles Bütschli a vu un corps central.

Fischer ne trouve pas de corps central; il affirme que les images observées par Bütschli sont des artifices de préparations déterminées par le plasmolyse des cellules. Ultérieurement, Guilliermond identifia les « grains rouges », (que Butschli considère comme des grains de chromatine), aux corpuscules métachromatiques.

Mitrophanow (1895) colore une espèce de *Beggiatoa* au bleu de méthylène, et régresse avec une solution aqueuse de sublimé à 0,75 %. Il distingue dans la cellule une zone centrale colorée en bleu qui représente un corps central.

Mac Callum (1899) observe une toute autre structure. Il remarque que le cytoplasme contient des granulations qu'il considère comme formées de substance nucléaire.

Hinze (1901) obtient des résultats semblables à ceux de Mac Callum, après fixation au liquide de Flemming et coloration à l'hématoxyline; Hinze constate que le cytoplasme alvéolé contient des granulations fortement sidérophiles dont l'ensemble constituerait un noyau diffus.

Karel Kruis et Bohnslav Rayman photographient à la lumière ultra-violette des *Beggiatoa;* ils concluent à l'existence d'un noyau typique dans les cellules de ce microrganisme. Les arguments de Karel Kruis ne paraissent pas être décisifs, car la technique employée par eux s'est trouvée en défaut dans l'étude de certains Bacilles endosporés (*Bacillus megatherium*, *B. asterosporus*, etc.). Ils ont confondu chez ces Bacilles, ainsi que l'a montré Guilliermond, les granulations chromophiles donnant naissance aux cloisons transversales avec des noyaux. De plus, Karel Kruis et Bohnslav Rayman ne se sont pas assuré si ce procédé ne met en évidence que les noyaux et si d'autres éléments ne produisent pas les mêmes effets optiques.

Guilliermond (1926) emploie une technique précise et met fin à cette controverse. Il constate que *Beggiatoa* ne possède pas de corps central ni de noyau typique, mais des granulations chromatiques disséminées dans le reticulum cytoplasmique. D'ailleurs, cette structure avait été discernée par cet auteur bien avant la publication de sa Note. Guilliermond met aussi en évidence des inclusions graisseuses colorables au « nadi » et au Soudan III, des granulations métachromatiques; les unes et les autres confèrent au cytoplasme une structure d'apparence spumeuse.

Vers la même époque, reprenant, sur les conseils de Guilliermond, la question de la Cytologie des *Beggiatoa*, nous avons examiné les filaments de cette espèce et nos résultats ont été en tous points semblables à ceux de cet auteur. Nous avons en outre remarqué quelques particularités.

In vivo, on voit dans quelques cellules des granulations de soufre (*tableau 3*, *fig. 4*), très abondantes et volumineuses, qui donnent à la cellule un aspect particulier; certaines granulations de soufre occupent presque toute la cellule, le cytoplasme étant réduit à une même pellicule périphérique.

Après fixation aux liquides de Bouin, de Lenhossek, les granules de soufre sont parfois dissous et éliminés des cellules, ainsi que l'avaient déjà constaté Gasperini et Corsini. Après coloration à l'hématoxyline, on constate, dans certaines cellules, une disposition du cytoplasme plus ou moins sinueuse, déterminée par la situation des inclusions. C'est cette disposition du cytoplasme, comparable à celle que l'on retrouve chez les Spirilles, qui avait incité Swellengrebel à considérer ce dernier comme un noyau; mais cette conclusion ne saurait être acceptée. Le cytoplasme contient des granulations sidérophiles (*fig. 3*).

Après fixation au liquide de Lenhossek, coloration au bleu de crésyl, de toluidine, on ne constate souvent qu'un seul corpuscule métachromatique par cellule; celui-ci est parfois colorable à l'hématoxyline et pourrait alors, en dépit de sa teinte rougeâtre, être confondu avec un noyau (*fig. 7*).

Thiothrix nivea (*tableau 2, fig. 7-11*)

Swellengrebel a trouvé dans les cellules de *Thiothrix nivea* deux masses de chromatine ressemblant à des noyaux.

Fourment, étudiant la cytologie des *Thiothrix tenuis*, *Th. tenuissima*, a confirmé pour ces espèces les résultats obtenus par Guilliermond à la suite de ses recherches sur *Beggiatoa;* il ne trouve pas de noyau ni de corps central, mais il met en évidence des granulations protoplasmiques colorées en bleu par le bleu de crésyl; d'après Fourment, ces grains jouent un rôle dans le métabolisme du soufre.

Après coloration post-vitale, au bleu de Nil ou de crésyl, nous avons constaté la présence de corpuscules métachromatiques (*tableau 2*, *fig. 9*); au moyen du «nadi », on observe les inclusions de subs-

tances grasses colorées en bleu-violet (*fig. 8*). Après fixation au liquide de Lenhossek, coloration à l'hématoxyline (*fig. 11*), on observe une structure semblable à celle des *Beggiatoa*.

Amœbobacter roseus (*tableau 3, fig. 12*)

Thiocystis violacea (*fig. 11*)

Thiothece (*fig. 8-10*)

Rhabdochromatium roseum (*fig. 13*)

Après fixation au liquide de Lenhossek, coloration à l'hématoxyline, on constate que le cytoplasme des trois premières espèces est alvéolé et renferme des granulations chromatiques analogues à celles que nous avons vues dans *Beggiatoa* et *Thiothrix*.

Chez *Rhabdochromatium*, observé post-vitalement avec le « nadi » et le bleu de crésyl, les granules de soufre, les inclusions graisseuses et les corpuscules métachromatiques sont situés au centre de la cellule ainsi qu'à la périphérie; ce fait n'est pas en accord avec l'opinion de Mitrophanow, car on sait, d'après les travaux de Guilliermond, qu'un corps central ne possède pas de corpuscules métachromatiques.

Chromatium Okeni (*tableau 1; tableau 2, fig. 1-6*)

Butschli a observé dans cette espèce un corps central caractérisé par un reticulum plus chromophile que le cytoplasme, renfermant des grains rouges qu'il considère comme des grains de chromatine.

Fischer attribue les figures décrites par Butschli à des altérations de cellules, causées par la plasmolyse. Guilliermond a démontré que les « grains rouges » sont des corpuscules de métachromatine.

Pour étudier le *Chromatium Okeni*, P.-A. Dangeard utilise la triple coloration de Flemming, à la safranine, au violet de gentiane et à l'orange G. Après fixation au liquide de Flemming, il colore à la safranine anilinée pendant quarante-huit heures, puis il régresse à l'alcool, traite par une solution aqueuse de violet de gentiane, puis dans une solution aqueuse d'orange G, puis différencie successivement dans l'alcool, l'essence de girofle.

P.-A. Dangeard observe deux particularités importantes : l'une concerne l'appareil locomoteur, le cil; l'autre, la formation nucléaire. P.-A. Dangeard distingue dans le *Chromatium Okeni* une zone externe homogène et gentianophile dans laquelle le pigment paraît localisé; une zone centrale alvéolée, safranophile, que P.-A. Dangeard considère comme un corps central.

L'appareil locomoteur, le cil, possède à sa base un blépharoplaste. Se basant sur cette structure, P.-A. Dangeard rapproche le *Chromatium Okeni* des Flagellés, qui seraient les ancêtres de toutes les Bactéries.

De Petschenko observe dans cette espèce la présence d'un appareil locomoteur, d'un noyau, d'un système plastidiaire. De Petschenko constate que le cil s'insère à la base d'un petit corpuscule semblable au blépharoplaste décelé par P. A. Dangeard. Selon De Petschenko, le noyau est différencié soit à l'état de grains très petits, à peine visibles, soit à l'état de granulations différenciées, soit sous la forme de plages diffuses chromophiles, soit enfin à l'état de corps central.

De Petschenko aurait en outre observé la présence de mitochondries et de chromatophores : les uns et les autres contiennent de la bactériopurpurine et des graisses qui diffuseraient ultérieurement dans le cytoplasme.

Signalons que Nadson et Wislough, Virieux ont mis en évidence dans une espèce voisine, l'*Achromatium oxaliferum*, des granulations chromophiles disséminées dans un reticulum cytoplasmique.

Recherches personnelles

Examen vital de la cellule. — Chez certains individus, la bactériopurpurine paraît localisée exclusivement à la périphérie (*fig. 1, tableau 1*), qui est plus acidophile que le centre, ainsi que nous le verrons ultérieurement; chez d'autres, le pigment est réparti d'une façon uniforme (*fig. 3*). Parfois, on aperçoit le cil.

Cil; enclaves du cytoplasme. — Il n'a pas été possible de tirer parti des colorations vitales et post-vitales avec le bleu de crésyl, car la couleur de la substance colorante se superpose à celle du pigment; il en résulte une teinte métachromatique foncée qui masque les éléments figurés du cytoplasme.

Si l'on examine le *Chromatium* dans la liqueur iodo-iodurée concentrée (iode 6 gr., iodure de potassium 4 gr., eau distillée 300 cm3), on aperçoit un cil ou un faisceau de cils colorés en jaune clair. Ce cil traverse la membrane, qui est interrompue à ce niveau par un petit canal, et vient aboutir dans le cytoplasme pariétal.

La cellule, teintée en jaune clair, contient dans la région centrale une substance voisine du glycogène, colorée en brun acajou (*fig. 2*).

Soit à l'observation post-vitale au « nadi », soit au moyen de la fixation au formol suivie de la coloration au Soudan III, nous observons un grand nombre de petites inclusions graisseuses disséminées dans le cytoplasme; les dernières ne sont pas colorables par la méthode de Dietrich et ne sont pas par conséquent constituées par des phosphatides (*fig. 4*).

Enfin, on note la présence de granulations de *soufre* qui sont, comme les graisses, réparties dans la cellule, parfois localisées au centre de cette dernière.

Après fixation au formol et coloration au bleu de crésyl, on constate aussi des corpuscules métachromatiques qui sont également disséminés dans la cellule (*fig. 5*).

Le vacuome. — Si l'on fixe aux liquides de Perenyi, de Lenhossek, au formol, et si l'on colore au bleu de crésyl, on observe des corpuscules métachromatiques colorés en rouge, autour desquels se trouve une auréole claire. Chez certaines cellules ces corpuscules métachromatiques sont très petits, très nombreux; dans d'autres Bacilles, on ne constate que quelques corpuscules métachromatiques bien visibles; nous n'avons pas rencontré de métachromatine condensée. Ces corpuscules sont situés dans les vacuoles; celles-ci sont très nombreuses et sont visibles aussi bien à la périphérie de la cellule qu'à son centre (*fig. 5*).

Après imprégnation du Bacille au nitrate d'argent par la méthode de Cajal (1), qui permet de mettre en évidence l'appareil de Golgi, on constate que l'argent est précipité sur les corpuscules métachromatiques (*tableau 1, fig. 6; tableau 2, fig. 3*) et colore ces derniers en noir.

L'appareil de Golgi des Bactéries est donc superposable au vacuome. Ces recherches sont en harmonie avec les résultats de Guillermond, qui a démontré que l'appareil de Golgi et le système vacuolaire des Végétaux sont identiques.

Il existe très souvent à l'une des extrémités une vacuole plus grosse (*fig. 7*) qui ne peut pas être comparée à la vacuole pulsatile des Flagellés; elle ne joue aucun rôle dans la locomotion; d'autre part, la membrane cellulaire est rigide.

Recherche du corps central. — Après fixation aux liquides de Regaud, de Perenyi, et coloration à l'hématoxyline ferrique, on observe un cytoplasme finement alvéolé, quelquefois homogène à la périphérie, dans lequel se trouvent disséminées des granulations sidérophiles (*fig. 7*). Parfois, on constate des corpuscules métachromatiques qui sont aussi colorables en noir (*fig. 8*). On ne voit aucun élément chromatique qui rappelle un corps central, même après coloration de coupes à la paraffine.

Le chondriome. — Si l'on fixe au liquide de Regaud et colore à l'hématoxyline, ou si l'on se sert du fixateur de Mèves et de la méthode

---

(1) La méthode de Cajal s'emploie de la manière suivante : on fixe les frottis humides dans le liquide (A) :

Formol à 40 %	15 cm3
Nitrate d'urane	1 gr.
Eau distillée	85 cm3

Ce liquide est préparé au moment de l'emploi. On lave rapidement à l'eau distillée et on traite les préparations au nitrate d'argent à 1,5 % pendant 36-48 heures, à l'obscurité. On lave de nouveau rapidement à l'eau distillée, puis on réduit pendant 20 heures dans le bain :

Hydroquinone	2 gr.
Formol à 40 %	15 cm3
Sulfate de soude	0.5 gr.
Eau distillée	1.000 gr.

On lave et on examine,

de Küll, on constate l'absence de chondriosomes. Les fixateurs, qui altèrent le chondriome, permettent de mettre en évidence les granulations sidérophiles qui n'ont pas les caractères des chondriosomes. Nous n'avons pas non plus constaté de chromatophores.

Aspects particuliers; artifices de préparation. — Après fixation au liquide de Flemming, coloration au procédé safranine-vert Lumière (*tableau 1, fig. 9*), il est visible que la partie périphérique, colorée par le vert Lumière, est plus acidophile que la partie centrale, qui est teinte en rouge. Mais cette différence d'acidophilie n'a pas l'importance que lui ont attribuée certains auteurs. On peut d'ailleurs obtenir des zones variables de différenciation depuis la périphérie jusqu'au centre, sans que l'on puisse discerner une teinte nette. D'ailleurs, ces aspects peuvent être obtenus sur des débris de membranes de Végétaux. On observe des figures semblables après fixation au liquide de Perenyi et coloration au bleu de crésyl ou à l'hématoxyline. La partie centrale du cytoplasme (*tableau 2, fig. 5-6*) est quelque peu plus basophile que la périphérie, mais il ne s'agit pas d'un corps central. On ne voit, en effet, aucune limite précise et, d'autre part, cette région n'a nullement la chromaticité d'un corps central.

Enfin, très rarement, on peut constater, après fixation par la méthode de Regaud et coloration à l'hématoxyline, la présence d'une zone centrale plus teintée que la périphérie. Cet aspect est dû à l'accumulation de corpuscules métachromatiques colorables à l'hématoxyline, et de granulations sidérophiles; il s'agit là d'éléments figurés ne correspondant pas à un corps central (*tableau 2, fig. 2* et *4*).

On peut provoquer l'apparition de figures ayant une certaine ressemblance avec un corps central (*tableau 1, fig. 10*); si l'on fixe à l'alcool, parfois au liquide de Perenyi, il arrive que la cellule se plasmolyse: le cytoplasme se détache de la membrane ou n'est réuni à cette dernière que par quelques tractus, de sorte que, si l'on colore à l'hématoxyline, au violet de gentiane, on observe une zone centrale très chromophile qui ne représente nullement un corps central; cette figure paraît avoir été considérée par Butschli comme telle. Si l'on examine le dessin qui accompagne le travail de Butschli, on se trouve effectivement en présence de figures de cellules plasmolysées, ainsi que l'avait déjà remarqué Fischer.

La fixation ou la dessiccation des frottis provoque la contraction du cytoplasme (*tableau 1, fig. 11*; *tableau 2, fig. 1*): on obtient, après coloration, des aspects possédant une certaine ressemblance avec un corps central.

Résumé

Le *Chromatium Okeni* renferme des inclusions diverses (matières grasses, corpuscules métachromatiques intra-vacuolaires, grains de soufre) qui sont réparties aussi bien au centre qu'à la périphérie de

la cellule; ce fait n'est pas en faveur de l'hypothèse de la présence d'un corps central.

D'autre part, on ne rencontre aucun élément chromatique qui pourrait constituer un corps central. On peut supposer que la chromatine existe à l'état de granulations disséminées dans un cytoplasme alvéolé; ce dernier est plus acidophile à la périphérie qu'au centre.

Le *Chromatium Okeni* possède un vacuome, superposable à l'appareil de Golgi, formé d'une série de petites poches contenant de la métachromatine. On ne saurait donc considérer le *Chromatium Okeni* comme une espèce voisine des Algues.

Nos résultats confirment et précisent ceux que Nadson, Virieux ont obtenus sur une Bactérie voisine.

Toutes les Bactéries sulfureuses ont une structure identique. Les formes rondes, les Bactéries filamenteuses, *Beggiatoa*, *Thiothrix*, le *Chromatium*, ne possèdent pas de corps central, contrairement à l'opinion de Butschli, Mitrophanow, P. A. Dangeard, de Petschenko. On ne constate pas davantage une différence du contenu cellulaire en corps central et cytoplasme; ce dernier possède une structure alvéolaire résultant de la présence d'inclusions (soufre, substances grasses, vacuoles), situées aussi bien au centre qu'à la périphérie, et contient des granulations sidérophiles (qu'on peut supposer être constituées par de la chromatine) dont l'ensemble formerait un noyau diffus.

Les Bactéries sulfureuses sont bien différentes des Algues; elles ressemblent aux autres Bactéries. Ces résultats s'harmonisent avec ceux de Hinze, de Mac Callum, de Nadson, de Virieux et de Guilliermond.

8. OSCILLOSPIRA GUILLIERMONDI (Chatton et Pérard)

Les Oscillaires parasites du tube digestif des animaux sont dépourvues de pigments et comprennent actuellement plusieurs genres : *Oscillospira*, *Simonsiella Alysiella* et *Anabœniolium*. Le genre *Oscillospira* est caractérisé par son trichome cylindrique, l'absence de membranes mucilagineuses et la présence d'endospores.

M. Langeron observe dans l'*Oscillospira Guilliermondi* un cytoplasme dépourvu d'inclusions et de pigment: il a cependant observé dans le corps du trichome « des portions bien délimitées » se colorant en brun acajou par l'iodo-iodure et en noir à l'hématoxyline; de plus, l'*Oscillospira Guilliermondi* ne renfermerait pas d'inclusions graisseuses.

Le rapprochement des Bactéries avec les Algues inférieures a d'abord été affirmé par Van Tieghem, qui se basait uniquement sur les caractères morphologiques. D'après cette théorie, on peut donc sup-

poser que les Cyanophycées peuvent, sous l'influence du parasitisme, perdre leur pigment et se rapprocher par leur structure des Bactéries qui dériveraient des Algues voisines des *Oscillospira*. L'étude cytologique de cette espèce a donc un intérêt de premier plan en ce qui concerne la position systématique du groupe des Oscillariées parasites et les véritables affinités des Bactéries.

L'espèce a été trouvée dans le cæcum du cobaye. *In vivo*, le cytoplasme a un aspect homogène; il est colorable uniformément par les colorants vitaux tels que le bleu de crésyl, de Nil. On a cependant discerné, après coloration post-vitale, quelques corpuscules métachromatiques autour de l'ébauche de l'endospore (*tableau 6*, *fig. 5*), qui a la même chromaticité que celle des Bactéries endosporées; on distingue aussi les disques disjoncteurs.

Après fixation du frottis aux liquides de Regaud, de Mèves, de Flemming, de Lenhossek, de Bouin, au formol, et coloration au bleu de crésyl, à l'hématoxyline, à l'hémalun, les trichomes sont teintés d'une manière diffuse; on peut cependant, dans certains cas, distinguer une bande longitudinale placée au centre du trichome, notamment après fixation au liquide de Perenyi (*tableau 6*, *fig. 5*).

Les auteurs, ne pouvant mettre en évidence le corps central, admettaient que celui-ci n'existait pas (M. Langeron, Grassé).

Il est nécessaire de colorer les coupes du contenu cæcal inclus à la paraffine. Le liquide de Perenyi permet d'obtenir de meilleurs résultats que les autres fixateurs. Après coloration à l'hématoxyline ferrique-éosine, on distingue dans chaque cellule du trichome une zone périphérique, colorable en rose, et un corps central, nettement délimité (*fig. 1*, *2*, *4*), formé d'un peloton chromatique très enchevêtré, semblable par sa disposition et sa chromaticité au corps central d'Oscillariées, telles que *Phormidium* (*tableau 21*, *fig. 1*), *Oscillatoria* (*fig. 3*, *4*). Le corps central occupe la plus grande partie de la cellule et ne possède pas de membrane.

La division cellulaire est particulièrement active surtout au sommet des trichomes; pendant que celle-ci s'effectue, le peloton chromatique s'étrangle en son milieu; il en résulte la formation d'une haltère qui se sépare complètement. Cette division nucléaire, qui partage le peloton chromatique en deux moitiés, ressemble beaucoup à celle qu'a décrite Guilliermond chez *Phormidium favosum;* elle peut être comparée, comme l'a déjà remarqué cet auteur, à un mode de division intermédiaire entre l'amitose et la mitose, c'est-à-dire au processus haplomitotique étudié par P.-A. Dangeard.

Le corps central est imprégné d'une substance voisine du glycogène, colorable en brun acajou par l'iodure (*tableau 6*, *fig. 3*).

En même temps que le corps central se divise, il semble que la cloison formée d'un anneau se resserre et sépare aussitôt les deux corps centraux venant de se séparer. La petitesse des cellules n'a permis de constater d'autres particularités concernant l'apparition des membranes transversales. On peut supposer que le processus est semblable à celui que Guilliermond a constaté chez les Cyanophycées.

Dans ces dernières, chaque cellule possède une ébauche de cloison formée d'un anneau qui se resserre au fur et à mesure que le corps central se divise : en même temps, il apparaît au milieu de chacune des cellules filles, incomplètement séparées, un anneau qui donne naissance à une nouvelle cloison.

Le cytoplasme est homogène; nous n'avons pas constaté de mitochondries. La formation de la spore n'a pas été étudiée, car le matériel dont on s'est servi en contenait trop peu.

L'*Oscillospira* possède donc les caractères principaux des Cyanophycées : groupement de cellules en trichome avec disques disjoncteurs; présence d'un corps central. L'endospore est un caractère bactérien, mais qui est moins important que les précédents; certaines Oscillariées présentent, en effet, des arthrospores.

Les recherches ont permis de déceler un corps central typique dans l'*Oscillospira Guilliermondi;* elles démontrent que cette espèce est une Oscillaire ayant perdu son pigment par adaptation au parasitisme et que, par suite, elle ne peut pas être considérée comme une forme intermédiaire entre les Algues et les Bactéries

9. MATÉRIEL DE COMPARAISON

Nous avons étudié, soit au moyen des colorations vitales, soit après fixation et coloration, divers microrganismes et des cellules nucléées, dans le but de comparer les éléments figurés à ceux que nous avons constatés au cours des recherches précédentes.

Si l'on colore vitalement au violet de Dahlia très dilué le promycélium d'*Ustilago Sorghi*, obtenu en faisant germer les spores sur du moût gélosé, nous observons un chondriome coloré en violet pâle, formé de courts filaments.

Si l'on emploie le bleu de crésyl, nous constaterons d'abord la précipitation de la métachromatine à l'état de corpuscules colorés en rouge vif (*tableau 20, fig. 7*). Enfin, si nous prolongeons la durée de la coloration à l'hémalun, on met en évidence le noyau teinté en violet sombre (*tableau 20, fig. 5, 6*); le cytoplasme et les corpuscules métachromatiques sont colorés en rouge. On peut aussi déceler dans le cytoplasme des chondriosomes par la méthode de Regaud.

Après avoir fixé au liquide de Regaud le méristème radiculaire de *Triticum vulgare* et coloré au vert Janus, il est facile d'observer les chromosomes du noyau (*tableau 21, fig. 11-14*). La chlamydospore de *Tilletia levis* (*tableau 20, fig. 4*), le Flagellé (*tableau 21, fig. 5*), l'*Amibe* (*tableau 21, fig. 17*), possèdent un noyau caractérisé, colorable par les différentes méthodes exposées dans la technique.

Après fixation au liquide de Lenhossek et coloration à l'hémalun, on met en évidence dans *Phormidium* (*tableau 21, fig. 1*), *Oscillatoria* (*tableau 21, fig. 2, 4*), un corps central formé d'un peloton chro-

matique très enchevêtré se divisant très activement selon un processus voisin de l'haplomitose.

La cellule de foie de Triton fixée et colorée par la méthode de Regaud possède des chondriosomes (*tableau 21, fig. 15*).

Si nous comparons la structure des Bactéries et celle des cellules qui viennent d'être brièvement décrites, nous constatons que la cellule bactérienne est dépourvue de noyau typique comme on en rencontre dans le promycelium d'*Ustilago Sorghi*, la chlamydospore de *Tilletia levis*, et qu'elle ne possède pas non plus de corps central.

On rencontre cependant dans un certain nombre d'espèces de Bactéries des granulations chromatiques dont l'affinité vis-à-vis de l'hématoxyline est de même ordre que celle des noyaux de l'*Ustilago Sorghi*, des chromosomes de *Triticum vulgare* et des pelotons chromatiques d'*Oscillatoria* et de *Phormidium*. Ces granulations ne sont pas assimilables aux chondriosomes du foie de Triton, car elles sont mises en évidence au moyen des fixations qui dissolvent le chondriome.

Comme il n'existe pas de noyau différencié, on peut supposer que la chromatine se trouve à l'état diffus dans la cellule et qu'elle est parfois différenciée sous forme de granulations disséminées dans le cytoplasme.

Par contre, l'*Oscillospira* est bien différente des Bactéries et des Sulfuraires; elle présente une ressemblance avec les Algues par la présence d'un corps central, comparable à celui des Cyanophycées.

Le vacuome est formé de petites poches contenant de la métachromatine en solution colloïdale qui se précipite sous l'effet des colorants et des fixateurs.

Nos recherches font ressortir que la cellule bactérienne se distingue des cellules des Végétaux par l'absence de noyau ou de corps central. Les Bactéries, notamment les Sulfuraires et le *Leuconostoc*, ont une structure spéciale, bien différente de celle des Algues et des Champignons.

Par contre, l'*Oscillospira* a les caractères des Cyanophycées; les Actinomycètes paraissent en général être pourvus de noyaux.

TROISIEME PARTIE

RÉSUMÉ, CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES ET CONCLUSIONS

Avant d'interpréter l'ensemble des résultats obtenus et de les comparer à ceux des auteurs qui nous ont précédé, il est nécessaire de résumer les *faits* que nous avons présentés au cours de cet exposé; ensuite, nous interpréterons ces résultats, puis nous examinerons le côté taxinomique de la question; en dernier lieu, nous exposerons les conclusions se dégageant de cette étude.

I. RESUME DES FAITS OBSERVES

Nous exposerons successivement les résultats concernant la Cytologie des Bactéries, les faits constatés chez les formes d'involution, enfin les résultats relatifs à la question de la sexualité.

1) LES FAITS

Formes rondes

Les formes rondes étudiées appartiennent à des espèces bien différentes, et l'on peut considérer celles-ci comme types de l'ensemble des *Cocci*. Le *Leuconostoc mesenteroïdes*, Streptocoque engainé, avait été considéré comme une Cyanophycée par Van Tieghem. Nos recherches vérifient celles de Crown et de Violle et montrent que le *Leuconostoc* ne possède pas d'arthrospores ni d'hétérocystes. Les cellules de plus grandes dimensions ont la même chromaticité et la même structure que les autres éléments et ne représentent pas des arthrospores. En outre, selon Crown, la gaine mucilagineuse du *Leuconostoc* ne se colore pas au rouge de ruthenium; au contraire, celle des Cyanophycées fixe ce colorant. Cet auteur sépare radicalement le *Leuconostoc* des *Nostoc*. Nos recherches confirment et précisent ce résultat en montrant que le cytoplasme ne contient ni granulations chromatiques, ni corps central. Le *Leuconostoc* est donc bien différent des Cyanophycées par sa structure et son développement.

Les Streptocoques de grandes dimensions (l'espèce D, trouvée dans la source sulfureuse, et la forme E, constatée dans le cæcum de co-

baye) ont été l'objet d'une étude cytologique précise. Ces microrganismes ressemblent extérieurement aux *Nostoc*, mais ils s'éloignent de ces Algues par leur structure. Le cytoplasme de ces Streptocoques est finement alvéolé (par suite de la présence d'inclusions grasses et de vacuoles à métachromatine); il renferme des granulations sidérophiles, colorables après des fixations très variées; mais il ne passède pas de corps central.

Le *Coccus* de grandes dimensions (trouvé dans l'intestin de *Platydactylus*) et la Sarcine possèdent un ou deux corpuscules, toujours colorables par les *bleus* de Crésyl et de Nil, au Giemsa, parfois par l'hématoxyline : ils sont constitués par de la métachromatine.

Le cytoplasme, teinté d'une manière homogène, ne contient aucun des éléments figurés décelables par l'emploi des méthodes exposées dans le chapitre consacré à la technique.

Il existe donc deux types de *Cocci* : les uns ont des granulations correspondant aux grains chromatiques des auteurs, les autres n'offrent pas ces granulations. Nos observations ne nous ont pas permis de constater chez les *Cocci* de noyau ni de corps central, à aucun moment de leur évolution, contrairement à ce qu'ont soutenu un certain nombre d'auteurs (Dobell, Mencl, Prazmowsky). Les corps considérés par ces auteurs comme des noyaux sont des corpuscules métachromatiques.

Formes cocco-bacillaires et bacillaires

Les Bacilles *asporés* possèdent, comme les *Cocci*, soit un cytoplasme homogène, soit un cytoplasme contenant des granulations chromatiques. Dans *Bacillus aceti*, le seul élément chromophile de chaque cellule est un corpuscule métachromatique.

Les Bacilles *endosporés* présentent des inclusions diverses (substances graisseuses, corpuscules métachromatiques) et souvent des granulations sidérophiles persistant pendant la plus grande partie de leur évolution.

Dans le cas du Bacille A, les granulations sidérophiles n'apparaissent que six heures après la germination de la spore. L'ébauche de celle-ci résulte du grossissement d'un grain chromophile, et présente l'aspect d'un noyau; après s'être entourée d'une membrane, la spore devient désormais incapable de fixer les colorants. La disparition des granulations sidérophiles (granulations chromatiques des auteurs) étant concomitante de la croissance de l'ébauche de la spore, on peut penser, à titre d'hypothèse, que cette dernière résulte de la condensation de ces granulations.

Dans *Bacillus anthracis*, le cytoplasme ne renferme pas de granulations sidérophiles comparables à celles du Bacille précédemment cité. L'ébauche de la spore est issue d'un granule situé au sein d'un cytoplasme homogène; elle ne saurait être considérée comme un noyau, quoiqu'elle ait une ressemblance avec ce dernier, car elle

ne se divise jamais et n'existe que pendant une partie du cycle évolutif.

Le Bacille trouvé dans l'intestin du crapaud possède deux spores; il est à rapprocher du *Bacillus flexilis* décrit par Dobell et aussi du *Bacillus Bütschlii* étudié par Schaudinn. Dans ce Bacille, les granulations chromatiques, primitivement éparses dans le cytoplasme, s'assemblent dans la région médiane, puis se localisent en des amas polaires qui constitueront l'ébauche de chaque spore. La formation de la spore dans ce Bacille rend donc vraisemblable l'hypothèse que nous avons formulée et qui consiste à admettre que l'ébauche se développe aux dépens des granulations chromatiques disséminées dans le cytoplasme.

Les Bacilles endosporés ne renferment pas de noyau différencié, ni de corps central. Il n'existe par conséquent aucune différence cytologique entre les Bacilles endosporés et les formes rondes.

Spirilles

Les espèces que nous avons observées ont une structure semblable à celle des Bacilles asporés. Ils renferment des granulations chromophiles éparses dans le cytoplasme.

Corynébactéries et Mycobactéries

Le Bacille diphtérique ne contient aucun élément chromatique comparable au noyau typique. Les inclusions considérées par certains auteurs comme des noyaux sont des corpuscules métachromatiques.

Le Bacille tuberculeux est dépourvu de noyau différencié visible. Le corpuscule central, très chromophile, est un corpuscule métachromatique, toujours colorable en rouge par le bleu de toluidine, après fixation au formol. Le Bacille para-tuberculeux possède un corpuscule chromatique qui ressemble à un noyau et dont nous n'avons pu éclaircir la signification.

Actinomycètes

Le thalle des Actinomycètes est formé d'un vrai mycelium cloisonné comme celui des Champignons, contrairement à l'opinion de Vuillemin, qui admet que ces Végétaux ne sont pas cloisonnés et constituent un groupe spécial, les *Microsiphonées*.

Les filaments contiennent de très nombreuses inclusions volumineuses constituées par des corpuscules métachromatiques. Dans les cas d'observations favorables, on a noté la présence de granules colorables en bleu par le Giemsa et ressemblant à des noyaux. Les conidies montrent souvent un corpuscule qui semble représenter un noyau.

Les filaments et les conidies des Actinomycètes paraissent être nucléés, mais la petitesse des éléments ne nous permet pas de nous prononcer d'une manière précise sur cette question.

Bactéries filamenteuses

Les espèces de grandes dimensions (parfois le diamètre atteint 5 μ) sont certainement dépourvues de noyau ou de corps central. Le cytoplasme, très finement réticulé, contient des granulations chromophiles.

Chez une grosse espèce, des observations ont montré que les corpuscules de métachromatine sont intravacuolaires et sont produits par la précipitation, sous l'influence des colorants, d'un contenu colloïdal à l'état de pseudo-solution.

Sulfuraires

Les espèces sphériques, telles que *Thiothece*, *Thiocystis*, *Amœbobacter*, ressemblent par leur structure aux *Cocci;* elles ne montrent pas, de même que ces derniers, de noyau.

Les formes filamenteuses, telles que *Beggiatoa alba*, *Thiothrix*, ne se distinguent pas par leur structure générale des autres Bactéries; elles renferment des granulations sidérophiles et des inclusions graisseuses très abondantes (ainsi que l'a montré Guilliermond) et des corpuscules métachromatiques (parfois un seul par cellule).

Dans le *Chromatium Okeni*, le pigment paraît être localisé dans la couche périphérique, qui est plus acidophile. Le cytoplasme est finement réticulé; il possède de nombreuses enclaves (graisses, granules de soufre, corpuscules métachromatiques). Nos observations ont montré que le *Chromatium* ne possède pas de corps central ni de noyau différencié. On y rencontre, comme chez certaines Bactéries incolores, des granulations sidérophiles, mais il est impossible de distinguer un corps central dans tous les cas; de plus, toutes les enclaves et les granulations sont situées aussi bien au centre qu'à la périphérie de la cellule.

Nos observations ont montré que le *Chromatium* ne possède pas de corps central ni de noyau différencié. On rencontre, comme chez certaines Bactéries incolores, des granulations sidérophiles, mais il est impossible de distinguer des éléments comparables à un corps central; de plus, toutes les enclaves et les granulations sont situées aussi bien au centre qu'à la périphérie de la cellule.

Nous avons pu déterminer l'apparition d'un pseudo-corps central après coloration des cellules plasmolysées.

Les Sulfuraires sont donc dépourvues de noyau ou de corps central.

Oscillospira Guilliermondi

Abstraction faite de l'existence d'une endospore, tous les caractères de cette espèce sont ceux d'une Cyanophycée. Les observations apprennent que chaque cellule des trichomes possède un corps central qui occupe la plus grande partie de la cellule; ce dernier, formé d'un peloton de filaments chromatiques très enchevêtrés, prend la forme d'une haltère au moment de la division cellulaire, puis se scinde par sa partie étranglée en deux corps centraux qui seront bientôt séparés

par une cloison. Ce mode de division, semblable à celui du corps central des Cyanophycées, paraît intermédiaire entre l'amitose et la mitose. Le corps central est presque constamment en voie de division comme les cellules du trichome des Cyanophycées. En outre, il est imprégné d'une substance voisine du glycogène, colorable en rouge brun par l'iodo-iodure de potassium. Le corps central est entouré d'une zone vacuolaire qui se trouve dans la région corticale. Le cytoplasme est réduit à une mince couche périphérique, homogène, peu chromophile.

La structure de l'*Oscillospira* est celle d'une Cyanophycée.

Matériel de comparaison

Nous avons comparé les granulations chromatiques rencontrées dans diverses espèces bactériennes et l'ébauche de la spore, avec les noyaux, les chondriosomes et certaines enclaves de Végétaux et de Protistes divers.

Après coloration vitale du promycelium d'*Ustilago Sorghi*, nous avons constaté l'apparition de corpuscules métachromatiques intravacuolaires identiques à ceux des Bactéries. Après coloration à l'hématoxyline, on aperçoit un cytoplasme (dont la chromaticité est semblable à celle du cytoplasme des Bactéries) et un noyau dans chaque cellule du promycelium.

La chromaticité de ce noyau est de même ordre que celle des granulations chromatiques et de l'ébauche de la spore des Bactéries. Après avoir coloré d'autres cellules (cellules du méristème radiculaire du Blé, dans lequel on aperçoit des mitoses, des spores de *Nosema Bombycis*, divers Protistes un Amibe et un Flagellé), nous nous sommes rendu compte que les chromosomes des cellules de Blé, le noyau des Protistes possèdent une chromaticité comparable à celle des granulations chromatiques et des ébauches de spore des Bactéries. On ne rencontre pas, d'autre part, dans les cellules bactériennes, de corps central analogue à celui de *Phormidium* et d'*Oscillatoria*, excepté chez l'*Oscillospira*, qui est une Cyanophycée.

Après fixation au liquide de Regaud, coloration à l'hématoxyline ou à la fuchsine acide, nous n'avons jamais constaté d'éléments identifiables aux chondriosomes.

Le cytoplasme des Bactéries ressemble à tous égards au cytoplasme des autres Végétaux, mais il semble être dépourvu de mitochondries.

2) LES FORMES D'INVOLUTION

Dans les vieilles cultures, on constate l'existence d'individus dont l'aspect est très différent de celui des cellules typiques : on rencontre des individus aberrants dont la présence est en relation avec certaines conditions de milieu (dessiccation, par exemple). Les *Cocci*, les Sarcines sont assez reconnaissables, car ils conservent généralement

un contour plus ou moins sphérique. Les Bacilles tels que celui de 2 μ (Bacille A), offrent une plus grande hétérogénéité de formes; on rencontre des individus globuleux, d'autres plus allongés, en forme de massue, parfois des cellules ayant une certaine ressemblance avec des Spirilles. La variation concerne aussi les dimensions; on voit en effet souvent des formes géantes particulièrement favorables à l'observation.

La structure des formes d'involution est la même que celle des formes normales; les cellules possèdent dans les deux cas les mêmes inclusions; si la cellule typique n'a pas de granulations chromatiques, le cytoplasme des formes d'involution est aussi homogène.

On rencontre dans les cellules typiques du Bacille A des granulations chromatiques disséminées dans un reticulum cytoplasmique.

Il est intéressant de constater que nous n'avons pu mettre en évidence la présence d'un noyau typique dans les cellules géantes, où le noyau, s'il existait, serait certainement visible. Ce fait constitue un argument en faveur de l'inexistence du noyau, car un tel matériel est très favorable à l'observation.

Les formes d'involution ne possèdent donc pas de noyau: elles ont la même structure que les formes normales.

3) SEXUALITÉ

Les processus de la sporulation, que nous avons observés dans le Bacille de l'intestin du crapaud, nous amènent à conclure que les Bactéries ne possèdent pas de sexualité. Les cellules de cette espèce (qui possèdent deux spores), voisine du *Bacillus flexilis* décrit par Dobell, renferment des granulations chromatiques disséminées dans le cytoplasme. Avant la sporulation, celles-ci s'accumulent aux deux pôles et s'y condensent pour former les ébauches des deux spores. On assiste à une sporulation identique à celle constatée par Schaudinn dans *Bacillus Butschlii*.

Mais, dans cette espèce, l'*absence de cloisonnement* dans la partie médiane exclut l'hypothèse d'une conjugaison autogamique, ainsi que l'avait d'ailleurs précédemment constaté Dobell.

Chez les autres espèces étudiées, nous n'avons jamais constaté non plus de fusions cellulaires.

Le cas de sexualité signalé par Karel Kruis et Bohnslav Rayman est différent du précédent. Ces auteurs auraient observé, dans les cellules à quatre noyaux des Bacilles endosporés, une fusion nucléaire, qui réduirait à deux le nombre des noyaux; il s'agit là d'une interprétation erronée; les auteurs ont confondu les prétendus noyaux avec les ébauches de cloisons transversales qui résultent, ainsi que l'a montré Guilliermond, de la soudure de deux grumeaux chromophiles, situés en général l'un en face de l'autre.

Les Bactéries ne possèdent donc pas de sexualité.

II. INTERPRETATION

Dans la première partie de ce travail, nous avons exposé un certain nombre d'observations réalisées, avec toutes les précautions techniques désirables, sur la structure de diverses Bactéries; nous avons relaté des *faits* incontestables. Il convient maintenant de comparer ces faits à ceux observés par nos devanciers; de cette comparaison, que nous rendrons aussi précise que possible, nous nous efforcerons de dégager des résultats généraux, et nous *interpréterons* ces derniers sans crainte de recourir, lorsqu'il ne sera pas possible d'émettre une affirmation catégorique, à des hypothèses de travail que les recherches futures confirmeront ou infirmeront.

Nous envisagerons d'abord les caractères généraux des corpuscules métachromatiques; l'importance de ces éléments, en Cytologie bactérienne, est, en effet, considérable. Puis nos observations sur la structure des Bactéries seront mises en parallèle avec celles des auteurs qui nous ont précédé. Nous examinerons, dans un premier paragraphe, les travaux des cytologistes affirmant l'existence d'un vrai noyau dans la cellule bactérienne; nous montrerons qu'une telle assertion résulte d'une interprétation erronée de certains aspects réalisés dans les préparations; or, les images produites par les corpuscules métachromatiques sont peut-être une des sources les plus fréquentes de confusion, et nous montrerons d'une manière précise que ce sont bien eux qui, dans de nombreux cas, ont été confondus avec des noyaux. Nous envisagerons ensuite les images produites par les grains chromophiles qui, chez de nombreuses Bactéries, contribuent à former la membrane jeune séparant, au moment de la division cellulaire, les deux cellules filles. Enfin, nous analyserons les aspects produits, dans la cellule bactérienne, par l'ébauche de la spore. Nous indiquerons jusqu'à quel point ces deux types de formations peuvent être confondus avec des noyaux.

Après avoir discuté la théorie de la cellule noyau, nous envisagerons les autres conceptions : la théorie de la présence d'un noyau dans la cellule bactérienne; l'opinion selon laquelle les cellules seraient dépourvues de noyau; nous insisterons sur l'hypothèse du noyau diffus et nous indiquerons les raisons qui militent en faveur de son adoption. Enfin, nous passerons aux questions du chondriome et du vacuome.

A) LES CORPUSCULES MÉTACHROMATIQUES

Une des sources les plus fréquentes d'erreur, en ce qui concerne la structure des Bactéries, est la présence, dans ces Végétaux, de corps connus sous le nom de *corpuscules métachromatiques*. Ces éléments sont les parties de la cellule les plus colorables par les teintures bleues et violettes d'aniline, et, bien qu'ils n'aient pas d'électivité

spéciale pour l'hématoxyline ferrique, ils se colorent très souvent par la méthode de Heidenhain. C'est ce qui explique que les auteurs, qui étaient souvent des bactériologistes peu au courant de la Cytologie générale, aient confondu ces corps avec des noyaux. Cependant, ces grains sont très communs chez les Algues et les Champignons et leur nature nucléaire ne peut être soutenue si l'on envisage les corpuscules métachromatiques dans la série végétale. Cela montre combien il est nécessaire de considérer tout problème cytologique particulier au point de vue de la Cytologie générale.

Avant d'interpréter les faits acquis concernant la structure des Bactéries, il ne sera pas inutile d'exposer l'état actuel de nos connaissances sur les corpuscules métachromatiques. Nous résumerons donc *les premiers travaux ayant fait connaître ces corpuscules;* nous indiquerons ensuite les premières hypothèses émises, puis les faits acquis sur la *signification morphologique* de ces grains; enfin, nous examinerons successivement les principaux caractères *histo-chimiques de la métachromatine*, la *nature de cette substance* et les conceptions sur son *rôle physiologique.*

a) *Premiers travaux sur les corpuscules métachromatiques.*

Les corpuscules métachromatiques ont été découverts et décrits, pour la première fois, par Babès, en 1887, dans le Bacille de la diphtérie et d'autres espèces; Babès reconnaît que ces grains sont colorés en rouge par les teintures bleues et violettes d'aniline (coloration dite métachromatique) et, pour cette raison, crée, pour les désigner, le terme de « corpuscules métachromatiques », encore généralement utilisé aujourd'hui. Après avoir cru que ces corpuscules étaient des spores, Babès abandonne cette idée et admet qu'ils représentent des noyaux. Ernst et Neisser retrouvent ces corps dans le Vibrion cholérique et le *Bacillus xerosis;* Ernst admet qu'ils représentent des spores, car, comme ces dernières, ils fixent intensément la fuchsine. Mais Bunge conteste aussitôt l'interprétation de Ernst.

Dans ses recherches sur les Bactéries et les Cyanophycées, Bütschli décrit, dans le corps central de ces organismes, des corpuscules colorables en rouge par l'hémalun et le bleu de méthylène; il les considère comme des grains de chromatine et les désigne, en raison de leur métachromasie, sous le nom de « *grains rouges* ». Ces corps sont signalés ensuite par Lauterborn chez les Diatomées; mais cet auteur montre qu'ils sont localisés en dehors du noyau. Matruchot et Molliard les signalent également dans le *Stichococcus bacillaris* : après les avoir considérés comme des produits de réserve, ils tendent à admettre qu'ils dérivent en partie d'une dégénérescence nucléaire. Enfin, ces corps sont signalés dans les Levures et pris pour des grains de chromatine localisés dans une vacuole, considérée comme un noyau primitif (Wager).

De 1901 à 1903, dans une série de publications, Guilliermond a apporté de nombreux faits concernant les corpuscules métachroma-

tiques des Levures et des Champignons; il a ainsi fourni des bases précises à la connaissance morphologique et physiologique de ces éléments. Ces recherches fondamentales de Guilliermond, complétées par des travaux ultérieurs, soit de ce même savant, soit d'autres auteurs, sont à l'origine des connaissances modernes sur ce sujet, dont nous allons donner un aperçu rapide. Ajoutons que les corpuscules métachromatiques ont été signalés également dans les Protozoaires. C'est ainsi que Conte et Vaney constatent la présence de corpuscules métachromatiques dans *Opalina intestinalis* et Fauré-Frémiet dans un Amœbien, *Chochliopodium pellucidum*. Ces corps sont vus par Von Prowazek dans divers Flagellés, par Schubotz dans l'*Amœba proteus* et *Am. villosa;* chez les Coccidies, par Labbé et Debaisieux (*Klossia helicina*, *Caryotropha Mesnili*); et par Erdmann dans une Sarcosporidie (*Sarcocystis tenella*); enfin, par Joyet-Lavergne dans divers Sporozoaires.

b) *Signification morphologique des corpuscules métachromatiques.*

Dès 1901, Guilliermond montre avec précision que les corpuscules métachromatiques n'ont rien de commun avec les noyaux : il établit que, dans les Levures, il existe toujours un noyau présentant une structure différenciée avec nucléole, nucléoplasme et grains de chromatine « se rapprochant des noyaux de Champignons supérieurs ». A côté de ce noyau, existe une vacuole renfermant de nombreux granules se colorant en rouge par l'hémalun et les colorants bleus d'aniline. Guilliermond montre que cette vacuole a été prise, par la plupart des auteurs, entre autres par Wager, comme représentant un noyau de type primitif; il démontre, en outre, que les granules contenus dans cette vacuole sont assimilables aux corpuscules métachromatiques de Babès et aux grains rouges de Bütschli. Enfin, Guilliermond retrouve ces mêmes corps dans un grand nombre d'Algues et de Champignons.

En 1903, A. Meyer a proposé de désigner ces éléments sous le nom de « grains de volutine »; ils sont, en effet, très nombreux chez *Spirillum volutans*, étudié en 1902 par un élève d'A. Meyer, Grimme. Guilliermond a protesté contre l'emploi de cette expression et propose d'adopter définitivement le terme « corpuscules métachromatiques », créé par Babès, et qui a la priorité, et de désigner leur substance sous le nom de métachromatine. D'ailleurs, c'est le terme employé par Guilliermond, au début de ses recherches, antérieures à celles de Grimme et de A. Meyer.

P. A. Dangeard constate, en 1916, par l'emploi combiné de colorations *in vivo* et après fixation, que chez une Diatomée (*Himantidium pectinale*), diverses Chlorophycées, *Ulothrix*, *Conferva;* un *Penicillium*, etc., les corpuscules métachromatiques sont des produits artificiels résultant de la précipitation d'une substance, la métachromatine, qui préexiste à l'état de solution colloïdale dans les vacuoles. Ces dernières contiennent un suc d'apparence homogène, retenant

les colorants vitaux et dans lequel se précipitent, sous l'influence de ces derniers, de nombreux granules de dimensions variées, qui sont précisément des corpuscules métachromatiques. Les fixateurs déterminent les mêmes phénomènes de précipitation; c'est ce qui explique les images observées dans les préparations.

Guilliermond reprend l'étude de la question; il confirme les conclusions émises par P. A. Dangeard; il les étend aux objets les plus variés, les précise et en dégage la vraie signification. Il observe sur le vivant que, dans de nombreuses espèces (*Botrytis cinerea*, *Penicillium glaucum*, etc.), les corpuscules se présentent parfois sous l'aspect de globules réfringents. En colorant vitalement ces Champignons avec une solution de rouge neutre, il constate l'apparition de corpuscules animés de mouvements browniens dans des vacuoles, qui n'en contenaient pas, et, en prolongeant l'expérience, il voit ces corpuscules se gonfler, quadrupler de volume (en même temps que leur mouvement brownien cesse) et constituer une grosse masse qui vient s'accoler, dessinant ainsi une sorte de croissant, aux pôles de la vacuole. Il arrive parfois que ces corpuscules gonflés s'introduisent dans le cytoplasme, phénomène expliquant l'erreur de certains auteurs qui admettaient que les corpuscules métachromatiques sont d'origine cytoplasmique ou nucléaire. Ce savant observe aussi des faits semblables dans *Zygosaccharomyces Chevalieri;* il a montré plus tard que chez les Cyanophycées, les corpuscules métachromatiques se précipitent dans les vacuoles sous l'effet du fixateur ou du colorant et émigrent ensuite dans le corps central.

Guilliermond conclut donc avec Dangeard que la métachromatine préexiste dans les vacuoles et qu'elle se condense sous l'action des colorants vitaux comme le rouge neutre, le bleu de Nil et des fixateurs.

Les corpuscules métachromatiques ont été trouvés en dehors du noyau par la plupart des auteurs précédemment cités (Fauré-Frémiet, Debaisieux, etc.).

Ces notions paraissent actuellement définitives : les corpuscules métachromatiques sont des aspects, particuliers aux êtres inférieurs, du système vacuolaire.

Nos recherches nous ont permis, par l'emploi systématique des colorants vitaux, de confirmer, pour les Bactéries, ces conclusions des travaux modernes sur les corpuscules métachromatiques.

c) *Caractères histochimiques de la métachromatine.*

Guilliermond a indiqué, dès 1901, les principaux caractères des corpuscules métachromatiques. Ces derniers se colorent vitalement au rouge neutre; ils prennent une teinte rouge violacée avec les bleus de crésyl, de Nil, de méthylène, de toluidine, de Unna, l'hémalun et le violet de gentiane, et se colorent en rouge par le rouge de ruthenium. L'hématoxyline, par contre, ne les teinte qu'irrégulièrement;

en effet, ils ne possèdent pas une électivité spéciale vis-à-vis de cette substance. Nos recherches ont montré que le Giemsa est susceptible de les colorer en rouge.

Après fixation, la chromaticité des corpuscules métachromatiques est variable; elle dépend de la nature du fixateur employé. Le liquide de Lenhossek, l'alcool, les solutions de sublimé ou celles contenant de l'acide acétique permettent toujours de les colorer intensément en rouge, avec les bleus d'aniline, l'hématun, alors que les fixateurs à base d'acide picrique sont beaucoup moins favorables à une coloration ultérieure. Les liquides à base d'acide osmique, de sels de chrome, ne permettent en général pas la mise en évidence de ces corps.

Ajoutons que A. Meyer a fait connaître une réaction caractéristique des corpuscules métachromatiques, qui consiste à décolorer par une solution d'acide sulfurique à 1 % les cellules teintées par la coloration alors que tout le reste de la cellule se décolore.

d) *Nature de la métachromatine.*

Arthur Meyer et Kohl considèrent la métachromatine comme une combinaison dans laquelle entre l'acide nucléique. A. Meyer a constaté que les Levures qui contiennent le plus de métachromatine sont celles dans lesquelles l'analyse révèle la plus grande quantité d'acide nucléique.

Reichenow a cultivé l'*Hæmatococcus pluvialis* (Algue riche en corpuscules métachromatiques) dans les milieux dépourvus de phosphore, et assisté à la disparition de ces derniers.

Van Herwerden a observé que les corpuscules métachromatiques de divers Champignons disparaissent rapidement quand ces Végétaux poussent sur des milieux ne contenant pas de phosphates; inversement, le même auteur a assisté à la réapparition des corpuscules métachromatiques en plaçant dans un milieu phosphaté des Champignons, privés de métachromatine par un séjour prolongé dans un milieu dépourvu de phosphore. Après traitement au moyen d'une solution de soude (qui dissout la métachromatine) de Champignons pourvus de métachromatine et de Champignons dépourvus de cette substance, Van Herwerden ne constate de l'acide nucléique, à l'analyse, que dans les extraits sodiques des Champignons contenant de la métachromatine et provenant de milieux phosphatés. Enfin, Van Herwerden a observé aussi la disparition des corpuscules métachromatiques sous l'action de la nucléase.

Henneberg vérifie que l'addition de phosphates dans les milieux de culture a pour effet d'augmenter la teneur en métachromatine des cellules de Levures. Zickel a décelé de fortes proportions d'acide phosphorique et des bases nucléiques dans diverses Levures où la métachromatine est très abondante, et obtient d'autre part les mêmes résultats que Reichenow et Van Herwerden, au sujet de la disparition de la métachromatine des cellules de Levures, et la réappa-

rition de cette dernière; il conclut que le phosphore est nécessaire à la synthèse des corpuscules métachromatiques.

De même, Arloing et Richard ont démontré que les corpuscules métachromatiques peuvent être décelés dans les Bacilles pseudo-diphtériques qui n'en renferment pas normalement, lorsqu'on cultive ceux-ci dans des milieux contenant du phosphore organique ou minéral).

Cependant, Glaubitz n'a pas vérifié l'existence, chez certaines Levures, d'une corrélation entre la présence de corpuscules métachromatiques et la proportion d'acide nucléique trouvée à l'analyse.

D'autre part, Guilliermond a démontré que les corpuscules métachromatiques ne présentent aucun des caractères chimiques des lipoïdes, contrairement à une opinion émise par Penau.

Les corpuscules métachromatiques ne sauraient être non plus considérés comme constitués par de la mucine, comme l'avait admis Alexeieff, cette substance se colore en effet par le muci-carmin de Mayer, le glychémalun de Mayer et le trichromique de Prenant, réactions que ne présentent pas les corpuscules métachromatiques, d'après nos recherches; enfin, l'hémalun, qui ne colore pas la mucine, teint ces derniers en rouge pourpre.

De toutes les recherches faites sur ce sujet, il résulte que l'on peut supposer que la métachromatine est une combinaison complexe dans laquelle entre de l'acide nucléique.

e) *Rôle des corpuscules métachromatiques.*

Les recherches de Guilliermond ont pour la première fois apporté des précisions concernant le rôle des corpuscules métachromatiques; cet auteur a démontré en effet que, dans l'épiplasme des asques, ces grains disparaissent pendant la croissance des ascospores, absorbés par celles-ci. Les corpuscules métachromatiques subissent donc le même sort que le glycogène qui coexiste avec eux dans l'épiplasme, où ils se comportent donc comme des produits de réserve. Guilliermond constate des faits de même ordre dans *Sterigmatocystis nigra* et *Penicillium glaucum*. Les corpuscules métachromatiques disparaissent à mesure que les conidies se développent. D'autre part, certaines Levures placées dans l'eau distillée perdent rapidement leurs corpuscules métachromatiques.

Guilliermond a étendu ses recherches aux Ascomycètes supérieurs et a montré que les corpuscules métachromatiques s'accumulent dans l'épiplasme, en même temps que le glycogène et les granulations graisseuses, et qu'ils sont absorbés par les ascopores pendant leur croissance.

Ce résultat a été confirmé par les travaux de Grimme sur les Bactéries; cet auteur est amené à conclure que les corpuscules métachromatiques sont absorbés par la spore.

Debaisieux, Arthur Meyer, F. Moreau et Reichenow admettent

également que les corpuscules métachromatiques sont des produits de réserve.

Cependant, une autre opinion s'est fait jour avec les travaux d'un certain nombre de bactériologistes.

Marx et Woithe considèrent que les grains décrits par Ernst et Babès n'apparaissent que dans les Bacilles en pleine vitalité, chez ceux qui seraient les plus virulents; les corpuscules métachromatiques représenteraient des toxines. Behring a admis que la toxicité du Bacille tuberculeux est due à la présence d'une substance qu'il nomme T. V. qui correspond à la métachromatine. D'après cet auteur, un gramme de cette substance desséchée est aussi virulent qu'un litre de la tuberculine de Koch. On a aussi invoqué en faveur de cette opinion le fait que le Bacille de la diphtérie se distingue des pseudo-diphtériques par la présence dans celui-ci de corpuscules métachromatiques qui font défaut dans ces derniers.

Henneberg a soutenu plus récemment une théorie assez analogue. Cet auteur considère les corpuscules métachromatiques comme des grains de zymogène, qui correspondraient dans les Levures à la zymase. Comme ces corps se rencontrent dans d'autres Champignons qui n'ont pas de pouvoir fermentescible, Henneberg admet que toutes les diastases seraient représentées par des corpuscules métachromatiques et qu'elles auraient, quelle que soit leur nature, des caractères semblables et notamment celui de se colorer métachromatiquement par les colorants bleus d'anilîne.

Guilliermond a combattu cette opinion et montré que les corpuscules métachromatiques ne paraissent pas se comporter comme des diastases et des toxines, car ils sont absorbés par les ascospores dans les asques et qu'il est beaucoup plus vraisemblable de leur attribuer le rôle de produits de réserve. Ascoli, Gauss, Krompecher n'ont d'ailleurs pas confirmé les vues de Marx et Woithe, ainsi que celles de Behring.

Arloing et Richard ont constaté que les corpuscules métachromatiques apparaissent dans les Bacilles pseudo-diphtériques (qui ne sont pas virulents) en les cultivant sur des milieux contenant du phosphore à l'état de composé minéral ou organique; les Bacilles pseudo-diphtériques ressemblent alors aux Bacilles diphtériques. D'autre part, Beauverie a recherché s'il existait une relation entre la présence de corpuscules métachromatiques et la virulence; il a constaté qu'une race pathogène de *Botrytis cinerea* contient beaucoup moins de corpuscules métachromatiques que la race saprophyte; il conclut que l'on ne doit pas voir de relations entre la présence de la métachromatine et la virulence. Van Herwerden a démontré que les Levures qui possèdent des corpuscules métachromatiques sont susceptibles de faire fermenter les sucres comme celles qui en sont dépourvues. Glaubitz signale enfin que les meilleures Levures de boulangerie sont celles qui renferment le moins de corpuscules métachromatiques.

Enfin, une troisième opinion a été soutenue par P.-A. Dangeard,

qui considère la métachromatine comme jouant un rôle important dans l'absorption (1).

Mais la théorie d'après laquelle les corpuscules métachromatiques seraient des produits de réserve est admise par la plupart des auteurs, et c'est évidemment la seule qui soit d'accord avec l'ensemble des faits.

On voit donc que si la nature chimique des corpuscules métachromatiques n'a pas encore été précisée et que si leur rôle est encore discuté, il est deux faits définitivement établis : les corpuscules métachromatiques sont toujours localisés dans la vacuole et n'ont aucune relation avec le noyau. Il est regrettable que beaucoup de bactériologistes, ignorant les travaux faits sur ces corps dans les Champignons, les Algues et les Protozoaires, discutent encore sur leur signification et les considèrent comme des noyaux, alors que sur ce fait la question est définitivement résolue.

B. LA QUESTION DU NOYAU DES BACTÉRIES

Il est nécessaire de comparer nos résultats avec ceux des auteurs qui nous ont précédé, de confronter les faits observés par ces derniers, l'interprétation qu'ils ont fournie avec les constatations qui ont été exposées dans la deuxième partie de ce travail. Nous discuterons dans un examen critique les différentes théories qui ont été proposées pour expliquer la structure des Bactéries : la théorie de la cellule noyau, la théorie de l'existence d'un noyau typique, la théorie du noyau central, la conception du noyau spiralé, et enfin celle du noyau diffus.

1. Théorie d'après laquelle la cellule bactérienne serait constituée tout entière de substance nucléaire (théorie du noyau ambulant)

Un petit nombre d'auteurs ont soutenu cette théorie : Hueppe, Künstler, Zettnow et Ruzicka.

---

(1) P.-A. Dangeard désigne sous le nom de métachromatine la substance constitutive, essentielle et caractéristique du système vacuolaire ou vacuome des Végétaux comme la chromatine est la substance essentielle du noyau. Cette métachromatine serait douée de propriétés physiques remarquables lui conférant un rôle fonctionnel de premier plan; grâce à un pouvoir électif (osmotine et électivine); l'absorption des nombreuses substances par la cellule serait conditionnée par sa présence. Il serait hors de propos de discuter ici les faits sur lesquels s'appuie cette théorie. Mais il est indispensable de noter que le terme de métachromatine ne peut être employé dans le sens que lui confère P.-A. Dangeard. La métachromatine, découverte par Babès et bien étudiée par Guilliermond, est une substance présentant des caractères histochimiques parfaitement définis; elle n'existe que chez les Algues inférieures, les Champignons, les Protozoaires et les Bactéries. Le terme métachromatine, pourvu depuis longtemps d'une acception précise, ne saurait donc être utilisé pour désigner la substance agissant comme osmotine et électivine, d'ailleurs dépourvue de caractères histochimiques déterminés et supposée existant chez tous les Végétaux inférieurs ou supérieurs.

Le premier, ne pouvant mettre en évidence un noyau chez les Bactéries, admet que toute la cellule est un noyau, mais cette affirmation est sans valeur, car la cellule bactérienne renferme des éléments, notamment l'ébauche de la spore, présentant quelques caractères histochimiques du noyau.

Künstler et Zettnow basent leur affirmation sur un autre argument : pour eux, la cellule bactérienne possède la même chromophilie que les noyaux des cellules des autres Végétaux et des Animaux et doit donc être considérée comme un noyau. Nous avons constaté dans de nombreuses espèces que la chromaticité des Bactéries n'est pas plus marquée que celle du cytoplasme des cellules nucléées, que les Bactéries possèdent un cytoplasme offrant les mêmes caractères histochimiques que celui des cellules nucléées. D'autre part, les cellules bactériennes peuvent être plasmolysées, ce qui les différencie des noyaux.

L'idée de Künstler et de Zettnow ne saurait donc être prise en considération.

Pour Ruzicka aussi, les Bacilles seraient des noyaux nus. Cet auteur a en effet constaté que le Bacille du charbon contient 70 % de nucléine. On peut objecter que la teneur élevée en protéine phosphorée peut résulter de la présence de corpuscules métachromatiques que l'on considère actuellement comme des combinaisons contenant de l'acide nucléique. La teneur élevée en cette substance dans ces organismes s'explique d'ailleurs si l'on admet que la chromatine existe à l'état diffus dans la cellule, et il n'est nullement besoin de recourir à l'hypothèse du « noyau nu ».

D'autre part, pour Ruzicka, « l'hyperchromaticité » du Bacille du charbon cultivé sur milieu glycériné serait due à ce que la cellule bactérienne serait tout entière constituée par de la substance nucléaire. A la suite des travaux de Bezançon, on admet que certains Bacilles, notamment le Bacille du charbon, peuvent acquérir l'acido-résistance, lorsqu'ils sont cultivés sur des milieux glycérinés. Or, on sait par ailleurs que l'acido-résistance résulte de la présence de corps gras. Tout ceci concourt par conséquent à établir que « l'hyperchromacité », constatée par Ruzicka, provient de l'acido-résistance. L'affirmation de Ruzicka est en contradiction avec le fait que l'on rencontre dans les cellules bactériennes des inclusions diverses, notamment des vacuoles, des graisses, du glycogène; étant donné que, dans toute cellule, ces diverses inclusions sont toujours situées en dehors du noyau, il est difficile de concevoir que la cellule bactérienne ne représente qu'un « noyau nu ». D'autre part, on observe dans certaines Bactéries la condensation de granulations chromatiques en une sphérule, l'ébauche de la spore, qui ressemble, quant à la forme et à la chromaticité, à un noyau; ce fait est évidemment en désaccord avec l'hypothèse de Ruzicka. Pour toutes ces raisons, on ne peut pas admettre l'assimilation de la cellule des Bactéries à un noyau nu. Elle n'en possède pas d'ailleurs la structure.

2. Théorie de l'existence, chez les Bactéries, d'un noyau typique

Un grand nombre d'auteurs ont décrit un noyau typique sphérique, qu'ils croient semblable à celui des cellules des autres Végétaux, mais la plupart de ces auteurs n'ont pas différencié avec précision ces prétendus noyaux et les ont confondus avec certains éléments chromophiles de la cellule, comme les corpuscules métachromatiques, les cloisons transversales en voie de formation, l'ébauche de la spore. Enfin, d'autres bactériologistes ont signalé des noyaux chez des microrganismes qui ne paraissent pas être des Bactéries et qui peuvent être considérés comme des Champignons insuffisamment décrits et dont la position systématique est incertaine.

Nous examinerons successivement, en nous appuyant sur les faits observés par nous, ces différents types d'erreurs.

a) *Noyau et corpuscules métachromatiques.*

La présence de corpuscules métachromatiques chez les Bactéries a constitué la principale source d'erreurs: ces éléments sont en effet doués d'une affinité très grande pour certaines substances colorantes que retiennent aussi les noyaux; leur situation intravacuolaire peut, d'autre part, comme on l'indiquera plus loin, être une source de confusions.

Arthur Meyer (1897), après fixation au formol et coloration à la fuchsine, a mis en évidence, dans *Bacillus asterosporus*, *B. tumescens*, *B. granulobacter*, des granules colorables qu'il considère comme des noyaux. Il retrouve un noyau dans la spore. Celle-ci apparaît sous l'aspect d'une vacuole dans laquelle pénètre le noyau. Guilliermond a montré que Meyer avait confondu ce prétendu noyau avec le corpuscule métachromatique, parfois unique, qui est placé au centre du *Bacillus asterosporus*.

Mencl (1908-1914) décrit dans les Sarcines, des Micrococques et l'*Azotobacter chroococcum*, des noyaux (un ou deux par cellule); ceux-ci sont constitués par une sorte d'auréole incolore (nucléoplasme) entourant des grains teints en rouge par le bleu de Unna: cette image répond à celle produite par un précipité métachromatique (grains colorés en rouge) dans une vacuole (auréole incolore).

Les figures nucléaires vues par Dobell (1909) dans les *Cocci* et les *Micrococci* sont aussi des corpuscules métachromatiques. Les prétendus noyaux signalés par Dobell se présentent sous l'apparence de grains rouges dans les préparations fixées à l'alcool et colorées par la méthode de Giemsa. Or, on sait que l'alcool est particulièrement favorable pour la mise en évidence des corpuscules métachromatiques et que le liquide de Giemsa est une teinture complexe qui confère aux corpuscules métachromatiques la même coloration rouge que le bleu de Unna ou le bleu de crésyl.

Prazmowsky (1912), étudiant l'*Azotobacter chroococcum*, observe des images analogues à celles de Mencl et les interprète de la même

manière que cet auteur; la même critique que l'on a adressée à Mencl peut donc lui être appliquée.

Enfin, il est inutile de revenir sur l'opinion de Kirchensteins, qui identifie les corpuscules métachromatiques à des noyaux; nous avons précédemment montré, en effet, que ces deux formations sont essentiellement distinctes.

Après cet examen critique des opinions émises par certains auteurs, nous indiquons brièvement nos observations personnelles intéressant cette question.

Nos constatations ont montré que le Bacille de la tuberculose possède un corpuscule central colorable en rouge par les bleus d'aniline, présentant les caractères de la métachromatine et qui semble correspondre au granule central trouvé par Nakanischi et Fontès. Cette granulation de métachromatine a, en outre, une vive affinité pour le *violet de gentiane et le bleu de méthylène*.

La précision de nos observations sur une Sarcine, un *Coccus*, formes très voisines des Bactéries étudiées par Mencl (*Azotobacter*, Sarcines, Microcoques), par Dobell (*Microcci*, *Cocci*), confirment cette interprétation critique. En effet, dans la Sarcine et le *Coccus* étudiés, on a constaté à l'examen vital et post-vital que la plupart des cellules contiennent une ou deux vacuoles à métachromatine dont le contenu est colorable en rouge par les bleus de crésyl, de toluidine, et que ces corpuscules rouges sont entourés d'une auréole incolore. On est donc en présence de figures identiques à celles vues par Dobell et Mencl. Les *Cocci*, les Sarcines, l'*Azotobacter*, le Bacille tuberculeux, ne possèdent donc pas de noyau, mais un ou deux corpuscules métachromatiques par cellule. Nos observations corroborent d'ailleurs celles de Ellis sur des Sarcines et de Beauverie sur l'*Azotobacter*. Enfin, nous avons noté d'autres cas où les corpuscules métachromatiques offrent l'aspect de noyaux. Ainsi, dans *Bacillus aceti*, il n'existe en général qu'un seul corpuscule métachromatique par cellule. De même, il arrive parfois que la cellule de *Beggiatoa* ne présente qu'un seul granule de métachromatine.

Nous avons aussi observé chez la Bactérie filamenteuse C des précipités métachromatiques agglomérés en filaments droits ou sinueux. De telles images, interprétées d'une manière insuffisamment critique, pourraient être décrites comme représentant des noyaux de formes spiralées. Les cas d'erreurs dues à une telle interprétation des corpuscules métachromatiques sont donc très nombreux.

b) *Noyaux et cloisons transversales.*

On sait que les cloisons transversales venant de se former sont très chromophiles et qu'elles sont issues de l'accroissement de granules se soudant en une masse discoïdale, souvent plus épaisse au centre que sur les bords et présentant ainsi l'aspect, dans les préparations, d'un corps régulièrement ovoïde. On conçoit que de telles formations aient pu être à tort considérées comme des noyaux. Trois auteurs, au

moins, semblent avoir commis cette confusion; ce sont, d'une part, Karel Kruis et Bohnslav Rayman, et, d'autre part, Mencl:

Kruis et Rayman ont coloré, dans les cellules courtes de certains Bacilles endosporés, un granule central ou, plus souvent, deux corpuscules situés l'un en face de l'autre, aux deux extrémités de l'axe transversal de la cellule; les mêmes Bacilles présentent des cellules allongées et étranglées à la partie médiane; or, au niveau de cet étranglement, Kruis et Rayman observent deux corpuscules ovoïdes, étroitement rapprochés, qui finissent par se fondre en une masse unique. L'interprétation des auteurs est la suivante : les corpuscules chromophiles sont des noyaux; les cellules courtes contiennent soit un seul noyau, soit deux noyaux résultant de la division de ce dernier et annonçant le clivage cellulaire. Les éléments longs représentent deux cellules en voie de fusion, et les images des deux corpuscules se confondant en un seul, sont des figures de fusion nucléaire. Guilliermond a déjà, dès 1907, démontré l'inexactitude de cette interprétation; un examen approfondi des dessins illustrant le mémoire de Kruis et Rayman lui montre en effet que les granules chromophiles vus par ces auteurs représentent l'ébauche de la membrane transversale, ébauche d'abord unique, puis double, puis formant dans les cellules longues une plaque bientôt clivée en deux moitiés semblables, tandis qu'apparaît l'étranglement qui va effectuer la division cellulaire.

On a lu dans le résumé historique formant le premier chapitre de ce travail comment Karel Kruis et Bohnslav Rayman ont observé des processus tout à fait analogues et qu'ils interprètent de la même manière chez *Beggiatoa*.

Mencl a observé la présence constante, dans un Bacille symbiote de *Periplaneta orientalis*, d'un granule sidérophile unique et assez gros; il le considère comme représentant un noyau typique, car il existe dans toutes les cellules et se divise par clivage. Mais Guilliermond a fait remarquer que ce corps chromatique n'est que l'ébauche d'une cloison transversale et correspond au corps décrit par Rayman et Kruis.

Au cours de nos recherches sur le Bacille A (de 2 μ), un Streptocoque de grandes dimensions et plusieurs Bactéries filamenteuses, nous avons réalisé des observations susceptibles de préciser la valeur des images observées par les auteurs précédents. Dans le Bacille A on observe, dans la région où va se produire l'étranglement précédant la division cellulaire, un granule sidérophile qui s'accroît, devient une masse lenticulaire, se soude à la paroi, formant un disque qui possède la même chromaticité que le granule. Le disque ne tarde pas à se diviser en deux moitiés; le clivage libérant deux nouveaux éléments cellulaires. La formation de la nouvelle cloison transversale s'opère selon un processus analogue chez le Streptocoque et la Bactérie filamenteuse : à l'endroit où la division cellulaire se produira (au milieu de la cellule en général), deux granulations sidérophiles apparaissent latéralement. Les deux granulations s'accroissent, se sou-

dent en un anneau qui se resserre. On assiste donc à la formation d'un disque clivable qui ressemble à tous égards à ceux observés dans le Bacille A.

Nous avons montré par ailleurs que ces espèces ne possèdent pas de noyau.

Dans tous les cas observés, ces ébauches de cloisons se distinguent, par ces processus caractéristiques auxquels elles donnent lieu, de toutes les autres formations figurées (ébauche de la spore, granulations sidérophiles); elles offrent une grande affinité pour l'hématoxyline et sont indépendantes de ces dernières : entre le stade à une granulation, celui à deux granulations, et enfin celui où l'on constate une cloison transversale achevée, il existe tous les intermédiaires. Or, ces formations à divers états de développement sont semblables à celles que Bohnslav Rayman et Karel Kruis ont décrites. Nous admettrons donc que les corps décrits par Karel Kruis et Bohnslav Rayman chez divers Bacilles endosporés, et chez *Beggiatoa* par Mencl dans le Bacille de *Periplaneta orientalis*, sont des ébauches de membranes semblables à celles que nous avons observées dans un Bacille A, un Streptocoque B, et une Bactérie filamenteuse B, et non des noyaux. Nos résultats confirment ainsi, sur ce point, ceux acquis précédemment par Guilliermond et Lwoff.

c) *Noyaux et ébauches de spores.*

Une autre cause d'erreur réside dans la formation de l'ébauche de la spore. On sait que celle-ci naît sous forme d'un granule qui grossit et devient semblable à un noyau.

Penau a décrit dans le Bacille du charbon un noyau sphérique, se colorant d'une manière uniforme avec la laque ferrique. Le noyau se transforme ultérieurement en un système de granulations éparses dans le cytoplasme, dont l'ensemble constitue un noyau diffus : bientôt ce dernier (1) se condense en un corpuscule semblable au noyau primitif, mais qui ne se divise plus et représente l'ébauche de la spore.

Nos recherches ont montré que, dans la cellule du Bacille du charbon, il n'existe qu'une seule formation chromatique, l'ébauche de la spore; celle-ci apparaît d'abord sous forme d'un granule sidérophile qui grossit et s'entoure ultérieurement d'une membrane pour devenir la spore proprement dite. Nous avons constaté en outre que ce grain chromophile (unique par cellule) ne se divise jamais, ne se résout pas non plus en un système de granulations, et qu'on rencontre toutes les formes intermédiaires entre le granule chromophile et

(1) Penau a, d'autre part, commis une autre erreur. Il figure au début de l'évolution du Bacille du charbon un noyau vésiculeux formé de tractus chromophiles ressemblant d'ailleurs au noyau diffus aux dépens duquel se développera la spore. Il semble que Penau ait confondu le prétendu noyau avec une vacuole incluse dans le reticulum cytoplasmique. Nous n'avons jamais retrouvé ces formations. Le cytoplasme du Bacille du charbon est en effet dépourvu de granulations chromatiques.

la spore adulte. De ces faits, il ressort que Penau a confondu l'ébauche de la spore avec un noyau; il arrive en effet que les ébauches de la spore de deux cellules contiguës soient situées l'une en face de l'autre, donnant l'impression d'un stade de télophase: mais un examen précis montre que chaque ébauche appartient à une cellule et ne se divise pas. On doit donc conclure que les figures du noyau plein, décrites par cet auteur, résultent d'une erreur d'interprétation. Nous étendrons pour des raisons identiques nos conclusions aux observations faites par de Petschenko sur le *Bacillopsis Stylopigæ*.

Tous ces faits montrent donc que, jusqu'à présent, aucun auteur n'a pu déceler la présence d'un véritable noyau dans les Bactéries. Schaudinn n'a pas d'ailleurs constaté de noyau dans des Bacilles de très grandes dimensions (*Bacillus Bütschlii*), chez lequel le noyau, s'il existait, serait visible. Les travaux de Guilliermond ont montré que, chez les *Bacillus subtilis*, *B. megatherium*, *B. asterosporus*, *B. tumescens*, *Spirillum volutans*, *Sp. giganteum* ne possèdent pas de noyau.

Il résulte d'autre part, de nos recherches, que le Bacille endosporé de grandes dimensions (Bacille A), le Bacille de l'intestin de crapaud (de type *flexilis*), que les formes d'involution géantes très favorables à l'observation cytologique ne possèdent aucun corpuscule chromatique pouvant être assimilé à un noyau. Nous conclurons avec Schaudinn et Guilliermond que les Bacilles endosporés ne possèdent pas de noyau, mais montrent au moment de la sporulation un corpuscule sphérique ressemblant assez par sa forme et sa chromaticité à un noyau et représentant l'ébauche de la spore.

d) *Noyaux caractérisés des microrganismes dont les affinités sont inconnues; noyaux insuffisamment décrits.*

Les corpuscules ovoïdes trouvés par Swellengrebel chez *Bacterium binucleatum* paraissent correspondre à des noyaux; ces figures ne sont pas assimilables à des cloisons transversales, car celles-ci ne se forment pas au niveau de ces noyaux; on ne peut pas les considérer comme des corpuscules métachromatiques ni comme l'ébauche de spores (ce Bacille est asporé). On ne sait pas quelle est la signification morphologique de ces prétendus noyaux. Il serait nécessaire, pour que l'on puisse se prononcer, que d'autres renseignements soient apportés.

Le *Bacterium gammari*, étudié par Vejdovsky, possède incontestablement un vrai noyau pourvu d'une membrane, d'un nucléoplasme et de caryosomes, mais, de l'avis de Caullery et de Mesnil et de celui de Guilliermond, ce microrganisme est une Levure; or, les recherches de Guilliermond ont montré que les Levures possèdent un noyau semblable à celui qui a été décrit par Vejdovsky; on peut faire une remarque analogue en ce qui concerne le noyau de la Bactérie filamenteuse trouvée par Vejdovsky dans *Bryodrilus Ehlersi*, qui semble être une Moisissure.

Le Bacille, signalé par Dobell dans l'intestin de *Boa constrictor*, possède un vrai mycelium cloisonné, et un noyau dans chaque cellule du mycelium; il représente donc aussi une Moisissure. Les Fusiformes nucléés, étudiés par cet auteur, sont peut-être aussi des organismes spéciaux différents des Bactéries ordinaires.

Certains bactériologistes ont donné des descriptions de noyaux incomplètes ou erronées. Ainsi, Kryztalowicz et Siedlecki, après coloration par la méthode de Romanowsky, ont observé dans chaque corps cellulaire de *Spirochæte pallida*, un espace clair central, qu'ils considèrent comme constituant le noyau. Il est évident qu'on ne peut pas assimiler avec certitude une enclave non colorable par la méthode de Romanowsky avec un noyau, car on sait en effet que ce procédé est précisément utilisé pour la mise en évidence du noyau des microrganismes, et notamment de celui des Protozoaires. De même, Sangiorgi pense que l'espace clair, observé après un simple examen à l'encre de Chine (méthode de Burri) dans différents Bacilles, représente le noyau.

Enfin, Gustein a constaté dans divers microrganismes, Levures et Bactéries, un macronucleus, colorable comme le noyau des Amibes, et un micronucleus. Il fixe les frottis de Levures à la flamme et les colore au moyen de plusieurs méthodes, notamment au bleu de Unna. Le macronucleus est coloré en bleu sombre; il paraît donc correspondre au noyau; le micronucleus, teinté en rouge par cette substance, peut être considéré évidemment comme une vacuole à métachromatine. Chez les Bactéries (*Bacillus anthracis*), le micronucleus se colore en rouge avec le bleu de méthylène; le macronucleus, que cet auteur ne représente que dans certains cas, paraît correspondre à l'ébauche de la spore. De plus, Gustein a commis une autre erreur : parfois il a confondu des corpuscules métachromatiques (teintés en rouge par le bleu de Nil) avec les spores. Ce travail ne saurait être pris en considération étant donné que les travaux classiques de Guilliermond ont définitivement résolu la question de la structure des Levures. Ce cytologiste a démontré, en effet, qu'il n'existe pas de micronucleus. Chez les Bactéries, ce dernier représente un corpuscule métachromatique.

On voit donc, à la suite de ce long exposé, qu'en résumé, certains auteurs ont confondu les corpuscules métachromatiques avec des noyaux dans les Sarcines, *Micrococci*, *Azotobacter chroococcum* (Mencl, Prazmowsky, Dobell, Kirchensteinsj, dans les Bacilles du pus bleu, les Pasteurelles (Kirchensteins). Une autre confusion a été faite par Karel Kruis et Bohnslav Rayman au sujet de Bacilles endosporés, tels que *Bacillus tumescens*, *Bac. asterosporus*, *Bac. granulobacter*, et par Mencl dans l'étude du Bacille trouvé dans *Periplaneta orientalis*. Guilliermond a en effet montré que Kruis et Rayman n'ont pas décelé de noyau dans ces espèces, mais qu'ils ont coloré les cloisons transversales des cellules en voie de division.

Divers auteurs, notamment Penau, de Petschenko, ont assimilé

l'ébauche de la spore à un noyau plein; nous venons de voir que cette opinion ne peut pas être acceptée.

Les noyaux (insuffisamment décrits), vus dans le *Spirochæte pallida* Kryztalowicz et Siedlecki), ne paraissent pas devoir être considérés comme tels, puisque ces auteurs n'ont pu les colorer.

Les organismes dans lesquels Mencl, Dobell ont trouvé un noyau sont en réalité des Moisissures.

Les Bactéries ne contiennent pas de noyaux; cependant, certaines formes à affinités incertaines, *Fusiformis*, *Bacterium binucleatum*, paraissent être nucléées; mais il n'est pas possible d'apporter un jugement définitif à ce sujet.

On peut donc affirmer d'après cet examen critique que la grande majorité des Bactéries ne possèdent pas de noyaux.

3. Théorie d'après laquelle les Bactéries seraient dépourvues de noyau ou de tout équivalent de noyau

Cette conception a été soutenue par A. Fischer, Migula et Massart, qui n'ont pu, comme nous, mettre en évidence dans la cellule des Bactéries ni noyau ni corps central; mais ces auteurs et nous-même avons constaté chez les Bactéries la présence de granulations chromatiques. A. Fischer, Migula et Massart admettent que les Bactéries sont dépourvues de noyau et que les granulations chromophiles, qui ne sont d'ailleurs pas permanentes, correspondent seulement à des produits de nutrition.

Cette théorie a été reprise tout dernièrement par Alexeieff. Cet auteur n'étant pas parvenu, lui non plus, à différencier un noyau dans les Bactéries, considère les granulations chromophiles que l'on rencontre dans le cytoplasme comme des mitochondries.

La théorie de l'absence du noyau peut parfaitement être soutenue si l'on s'en tient exclusivement aux faits, sans tenir compte des données de la Cytologie générale. Nos recherches, basées sur l'étude d'un grand nombre d'espèces, aboutissent en effet à la conclusion qu'il est impossible de différencier un noyau dans les Bactéries. Les granulations chromophiles que nous avons décrites dans beaucoup d'espèces pourraient être considérées, en raison de leurs caractères histochimiques, comme des grains de chromatine. Mais ces granulations ne sont pas permanentes : elles n'existent pas dans les cellules jeunes et ne se rencontrent pas chez toutes les Bactéries. On pourrait donc considérer ces formations chromatiques, avec Fischer, Migula et Massart, comme des produits de nutrition (grains de sécrétion). Mais on conçoit difficilement l'absence de tout équivalent du noyau dans la cellule bactérienne, puisqu'à l'exception des Bactéries, on ne connaît pas d'exemples de cellules sans noyau. D'autre part, les travaux de Balbiani et d'autres savants ont démontré expérimentalement le rôle essentiel du noyau dans la vie cellulaire. Enfin, dans certains cas, on constate que ces granulations se fusionnent pour constituer l'é-

bauche de la spore qui présente les caractères de coloration d'un noyau : ce fait nous autorise à penser que ces granulations correspondent peut-être à des grains de chromatine dont l'ensemble constitue le noyau diffus et que la spore serait formée presque exclusivement de substance chromatique.

4. Théorie de l'existence d'un noyau spiralé dans la cellule bactérienne

Un noyau, constitué par des trabécules de chromatine disposés en une spirale, aurait été constaté, par Swellengrebel, chez *Spirillum gigauteum*, *Bacillus maximus buccalis*, et par Annie Porter chez un Spirille de grandes dimensions (*Spirochæte Balbianii*). Swellengrebel a observé dans *Spirillum gigauteum*, *Bac. maximus buccalis* que cette partie chromophile se scinde en deux spirales chromatiques pendant la division cellulaire: ces dernières s'écartent l'une de l'autre et émigrent chacune dans chaque cellule sœur. Ce noyau se divise donc transversalement. Cet aspect n'est pas dû, comme le croyaient Hollins, Zettnow, à des figures déterminées par la plasmolyse et la dégénérescence. Guilliermond a montré que, dans les Spirilles, il n'existe qu'une seule rangée de vacuoles qui sont entourées d'un cytoplasme dont les tractus présentent une disposition spiralée. Cet aspect explique l'interprétation erronée de Swellengrebel. Ce dernier d'ailleurs a reconnu ultérieurement son erreur. Dobell (*Cristispira Veneris*), Hollande (*Cristispira tapetos*) et d'autres n'ont pas davantage pu retrouver les bandes chromatiques décrites par Annie Porter, dont l'ensemble a l'aspect d'un noyau spiralé. Cet auteur a commis la même confusion que Swellengrebel.

Par contre, Dobell a observé dans le *Bacillus spirogyra* et un Spirille trouvé dans *Lacerta muralis*, un noyau constitué par un filament spiralé caractérisé, colorable en rouge par la méthode de Romanowsky après fixation à l'acide osmique. Il est possible que ce filament soit un noyau, comme l'indique Dobell, qui a étudié un matériel très spécial, mais il se pourrait aussi qu'il soit constitué par des agrégats de métachromatine : Dobell obtient en effet les mêmes résultats après immersion des frottis dans l'alcool, et coloration par la méthode de Giemsa, colorant qui teinte les corpuscules métachromatiques en rouge. Guilliermond a découvert d'autre part un noyau constitué par un filament axial chez un Bacille trouvé dans l'*Echinocardium cordatum*. On ne peut donc émettre une opinion décisive en ce qui concerne les travaux de Dobell.

Mais il est un fait bien établi : les Bactéries ne contiennent pas de noyau spiralé analogue à celui décrit par Swellengrebel.

5. Théorie de l'existence d'un corps central chez les Bactéries

Cette conception, soutenue d'abord par Bütschli, est fondée presque exclusivement sur une idée préconçue que les faits n'ont pas vé-

rifiée. Bütschli pensait que les Bactéries ont une parenté étroite avec les Cyanophycées. Rappelons que Bütschli a montré que le cytoplasme alvéolé des Bactéries présente une couche corticale mince, peu chromophile, et une région centrale occupant toute la cellule et se colorant d'une manière plus intense. Cette région centrale renferme des granulations que l'auteur désigne sous le nom de « grains rouges », parce qu'ils prennent avec l'hémalun une teinte rouge, et les considère comme des grains de chromatine. Pour Bütschli, la région centrale correspond à un noyau d'organisation primitive, à un corps central analogue à celui des Cyanophycées. Bütschli, admettant que les Bactéries sont très rapprochées des Cyanophycées, cherche à retrouver la structure de ces dernières. Il est parvenu à mettre en évidence le même corps central dans les Sulfuraires *Beggiatoa*, *Chromatium*, etc.). Chez les autres espèces, cet auteur a éprouvé beaucoup de difficultés à différencier un corps central; cependant, il a observé un cytoplasme alvéolé renfermant des « grains rouges »: il admet que le corps central des espèces de petites dimensions occupe presque toute la cellule et que le cytoplasme se trouve réduit à une couche si mince qu'il est impossible de la déceler.

Les recherches de divers auteurs, notamment celles de Guilliermond, sur les Cyanophycées, ont confirmé l'existence d'un corps central dans chaque cellule de ces Algues; mais cet auteur montre que les « grains rouges » correspondent à des corpuscules métachromatiques et non à des grains de chromatine. Les recherches récentes de ce savant ont démontré que les corpuscules métachromatiques (grains rouges) de Bütschli résultent de la précipitation, sous l'influence des fixateurs, de la métachromatine localisée dans de petites vacuoles situées dans le cytoplasme cortical, et de l'émigration de ces corpuscules, soit à la périphérie, soit à l'intérieur du corps central. Les « grains rouges » sont donc des artifices de préparation. Quant au corps central, Guilliermond a établi qu'il est constitué par un peloton chromatique qui se divise, pendant le partage cellulaire, selon un processus intermédiaire entre l'amitose et la mitose; les filaments chromatiques s'orientent parallèlement dans le sens de la longueur de la cellule; puis, cet ensemble prend la forme d'une haltère qui s'étrangle en son milieu, pendant la formation de la cloison transversale. Il en résulte la division en deux pelotons chromatiques; un pour chaque cellule fille. Guilliermond rapproche ce processus de l'haplomitose des Euglènes, des Infusoires et de certains Péridiniens et montre que le corps central représente un noyau de structure primitive, dépourvu de membrane et réduit à un peloton chromatique. Il explique cette structure par le fait que, les cellules des Cyanophycées étant presque constamment en voie de division, le noyau ne se trouve jamais à l'état de repos.

Un petit nombre d'auteurs, tels que Trambusti et Galeotti, Mitrophanow, P.-A. Dangeard et de Petschenko, se sont ralliés, en ce qui concerne les Bactéries, à la théorie de Bütschli, et ont décrit dans certaines d'entre elles un corps central.

Swellengrebel aurait constaté l'existence d'un corps central dans une Bactérie filamenteuse, *Calothrix fusca*. Ce corps central est constitué par une substance achromatique alvéolée (distincte du cytoplasme), située au centre de la cellule et contenant des granulations chromatiques. Mais ce prétendu corps central n'est pas assimilable à celui des Cyanophycées, car il est disloqué par des inclusions hyalines : on est alors en présence d'une série de granulations disséminées dans le cytoplasme. D'ailleurs, Swellengrebel reconnaît que, dans ce cas, il n'existe pas de distinction entre le substratum achromatique et le cytoplasme. La division du « corps central » a lieu par simple fissuration; ce processus de division est bien distinct de celui des Cyanophycées, et on ne peut pas admettre l'existence d'un corps central chez cette Bactérie.

Cependant, la grande majorité des auteurs n'ont pu confirmer les vues de Bütschli. Schaudinn et Guilliermond surtout se sont attachés à démontrer que les Bactéries ne possèdent pas de corps central.

Le corps central décrit par Trambusti et Galeotti dans des espèces comme *Bacillus megatherium* et *B. subtilis* n'a jamais été retrouvé, et on peut considérer comme établi que sa description résulte d'une interprétation inexacte.

La présence du corps central, observé par Bütschli et Mitrophanow dans les Sulfuraires, n'a pas été confirmée par les travaux de West et Griffiths, Mac Callum, Hinze, Virieux et Nadson. De plus, Guilliermond a récemment comparé la structure des *Beggiatoa* à celle des Cyanophycées et démontré que les *Beggiatoa* offrent la même structure que les autres Bactéries; ces dernières possèdent un cytoplasme alvéolé, quelques corpuscules métachromatiques et d'assez nombreuses granulations chromophiles que l'on peut supposer être constituées par de la chromatine; l'ensemble de ces grains chromophiles formerait un noyau diffus.

Les Bactéries ne présentent donc absolument rien de comparable au corps central décrit par le même auteur dans les Cyanophycées. La présence du prétendu corps central décrit par Bütschli s'explique par le fait que les *Beggiatoa* sont facilement plasmolysables sous l'influence des fixateurs : le cytoplasme se détache de la membrane, formant au milieu de la cellule un corps colorable que l'on peut confondre avec un corps central. Les résultats ultérieurs de Fourment ont confirmé les vues de Guilliermond.

De notre côté, nous n'avons jamais observé de corps central dans les *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Thiothece* et *Thiocystis*.

L'étude du *Chromatium Okeni*, Bactérie relativement grosse, chez laquelle P.-A. Dangeard et de Petschenko ont décrit un corps central, nous a montré qu'il existe une zone cytoplasmique située à la périphérie, homogène (plus acidophile que le centre et qui paraît renfermer le pigment rouge) et une région centrale, à structure alvéolée, considérée par Bütschli et P.-A. Dangeard comme un corps central, qui n'a pas la chromaticité de ce dernier. Cette région centrale

renferme des inclusions diverses (soufre, corpuscules métachromatiques, graisses), dont la situation paraît incompatible avec une telle structure nucléaire. La cellule présente, cependant, des granulations chromophiles, dont l'ensemble peut être considéré comme un noyau diffus.

Nos recherches sur le *Chromatium* ne confirment pas celles de P.-A. Dangeard, ni celles de de Petschenko, qui d'ailleurs est obligé de reconnaître, comme Swellengrebel, que le corps central n'est pas une formation constante.

Nos recherches montrent donc qu'il n'existe dans les Bactéries rien de comparable au corps central des Cyanophycées. Seule, l'*Oscillospira Guilliermondi* nous a permis de mettre en évidence un corps central très net et tout à fait analogue à celui des Cyanophycées que nous avons étudiées comparativement. Bien que l'*Oscillospira* montre une endospore, cette espèce possède des caractères morphologiques qui la rapprochent incontestablement des Cyanophycées, et nos recherches nous ont amené à séparer cette espèce des Bactéries et à la considérer comme une Cyanophycée ayant perdu son pigment par adaptation au parasitisme.

6. Théorie du noyau diffus

Nos résultats ne nous ont pas permis de mettre en évidence l'existence d'un noyau typique ou spiralé dans aucune des Bactéries étudiées, et nous avons montré que les corps considérés, par certains auteurs, comme des noyaux, ne sont pas autre chose que des corpuscules métachromatiques, des cloisons transversales ou enfin des ébauches de spores. Ils ont prouvé, en outre, qu'il n'existe pas dans les Bactéries de formations comparables au corps central des Cyanophycées. Nous avons enfin éliminé la théorie, très invraisemblable, d'après laquelle la cellule des Bactéries serait un noyau nu.

Etant donné qu'il est difficile d'admettre que les Bactéries sont dépourvues de noyau, on ne doit donc considérer que la théorie du noyau diffus.

D'après cette théorie, formulée surtout par Schaudinn et Guilliermond, on admet que les Bactéries auraient une chromatine mélangée au cytoplasme, pouvant se précipiter sous forme de grains. Cette conception trouve son principal appui dans le fait que l'ébauche de la spore se présente sous l'aspect d'un corpuscule chromatique, semblable à un noyau, qui résulte de la condensation des granulations chromatiques primitivement disséminées dans le cytoplasme. Ce corpuscule s'entoure ensuite d'une membrane qui fait alors obstacle à la pénétration des colorants; la spore apparaît alors sous la forme d'un corps réfringent qu'on ne peut colorer qu'avec des procédés spéciaux. On pourrait admettre que la spore résulterait de la précipitation de la chromatine mélangée au cytoplasme, qu'elle serait en majeure partie constituée par de la chromatine, comme c'est le cas

d'ailleurs des anthérozoïdes de beaucoup de Végétaux. Tous les faits observés, au cours de nos recherches, sont en faveur de cette hypothèse qui nous paraît la plus vraisemblable et que nous adopterons. On a vu, en effet, au cours de notre exposé, que, dans un grand nombre d'espèces, on trouve dans le cytoplasme de nombreuses granulations chromophiles qui présentent certains caractères histochimiques de la chromatine : dans certains Bacilles endosporés, c'est à leurs dépens que paraît se constituer l'ébauche de la spore.

Le fait est très net dans le Bacille trouvé dans l'intestin du crapaud; ce Bacille ressemble beaucoup, par ses dimensions et la présence de deux spores par cellule, au *Bacillus Butschlii* et au *Bacillus flexilis*, chez lesquels Schaudinn et Dobell ont observé un noyau diffus. Dans le Bacille de l'intestin du crapaud, les grains chromatiques (1), d'abord disséminés dans le cytoplasme alvéolé, s'assemblent au moment de la sporulation dans la partie médiane de la cellule, puis émigrent aux deux pôles, y constituant des amas se transformant en un corpuscule chromatique sphérique qui est l'ébauche de la spore. Dans d'autres Bacilles endosporés, les cellules, d'abord fortement chromophiles et homogènes, prennent bientôt une structure alvéolée, et dans le reticulum cytoplasmique, on observe alors de nombreuses granulations chromatiques qui disparaissent, en grande partie, ultérieurement, au moment où se forme l'ébauche de la spore, comme si cette dernière était formée à leurs dépens. Il est vrai que, dans *Bacillus anthracis*, ces granulations font défaut et que la spore apparaît directement au sein du cytoplasme homogène, sous la forme d'un corpuscule colorable. Mais, dans ce cas, on peut supposer que la chromatine, non différenciée à l'état de granulations, se trouve intimement mélangée au cytoplasme et qu'elle se précipite pour former l'ébauche de la spore. Nous avons étudié aussi d'autres Bactéries non sporogènes, tel que *Bacillus aceti*, le Bacille diphtérique, où l'on ne rencontre jamais de granulations chromatiques : on peut supposer également que, chez ces espèces, la chromatine est intimement mélangée au cytoplasme.

On voit donc que nos recherches vérifient entièrement les résultats obtenus par Schaudinn et Guilliermond et nous amènent à formuler la même interprétation que ces auteurs. Il convient de faire remar-

(1) On a écrit que les grains chromatiques dispersés dans la cellule bactérienne représentent un noyau *chromidial* ou *chromidium*. C'est là une expression que l'on ne saurait adopter. Le terme de chromidies a été créé par Richard Hertwig pour désigner des corpuscules qui sont expulsés du noyau, au cours du cycle évolutif de certains Protozoaires (Actinosphærium); ces chromidies paraissent tantôt être utilisées pour la nutrition de l'animal (trophochromidies), tantôt devenir l'origine de noyaux reproducteurs, tandis que le noyau primitif disparaît (idiochromidies). Quoi qu'il en soit de la réalité de ces phénomènes, qu'il est hors de propos de discuter ici, ceux-ci sont tout à fait particuliers aux Héliozoaires. Le terme chromidie doit donc être réservé à cet ordre de fait spécial et il ne saurait être employé pour désigner les granulations chromatiques des Bactéries, granulations ne se prêtant à aucune comparaison possible avec les chromidies de Richard Hertwig.

quer que la théorie du noyau diffus que nous adoptons ne peut être considérée que comme une hypothèse tendant à expliquer l'absence d'un noyau différencié.

C. LE CHONDRIOME ET LE VACUOME

On sait qu'il est aujourd'hui démontré que toute cellule renferme un chondriome et un vacuome.

Toutefois, le *chondriome* n'a pu être décelé chez les Cyanophycées; Guilliermond a émis l'hypothèse que la substance mitochondriale serait diffuse dans le cytoplasme de ces Algues. Nous avons vu que l'on ne peut accepter l'hypothèse d'Alexeieff, qui admet que les Bactéries sont dépourvues de noyau et que les granulations chromophiles, décrites comme des grains de chromatine (dont l'ensemble constituerait un noyau diffus), seraient des mitochondries.

En effet, les grains chromophiles des Bactéries ne présentent pas les caractères histochimiques des mitochondries. Nos recherches ne nous ont pas permis de mettre en évidence le chondriome des Bactéries. Il est clair que la petite taille de leurs cellules rend fort difficile la différenciation de ces organes. Il est donc possible que le chondriome existe, mais ne puisse être mis en évidence. On peut aussi supposer que le chondriome fait défaut comme chez les Cyanophycées.

Par contre, le *vacuome* apparaît d'une manière constante dans les Bactéries, contrairement à l'opinion qui avait été émise par Van Tieghem, qui admettait que les Bactéries étaient dépourvues de vacuoles. Un des points les plus importants de nos recherches a été précisément de confirmer l'opinion de Guilliermond et de démontrer que les Bactéries renferment toujours des vacuoles. Dans les cellules très jeunes, elles apparaissent sous la forme de petites inclusions hyalines sphériques; dans les cellules plus âgées, ces vacuoles deviennent plus nombreuses et déterminent la structure alvéolée du cytoplasme. Ces vacuoles renferment souvent de la métachromatine, à l'état très condensé, que l'on peut colorer vitalement par le rouge neutre ou le bleu de toluidine, et qui se teinte en rouge, après fixation, par l'hémalun et le bleu de toluidine. Nos recherches ont établi aussi que la métachromatine s'imprègne par l'argent lorsqu'on traite les cellules par la méthode de Ramon y Cajal. Ce procédé permet d'obtenir des images tout à fait superposables à celles que l'on observe après les colorations vitales et les colorations par l'hémalun ou le bleu de toluidine (après fixation à l'alcool ou au formol).

Le vacuome présente donc ici, comme cela a été démontré par Guilliermond dans les Végétaux plus évolués, les caractères de l'appareil de Golgi.

III. CONSIDÉRATIONS TAXINOMIQUES

Les faits que nous avons obtenus apportent quelques horizons nouveaux sur la taxinomie des Bactéries et nous amènent à examiner la question de la place que l'on doit assigner à ces microrganismes dans la classification.

Rappelons que quatre théories ont été proposées : la théorie d'après laquelle les Bactéries feraient partie des Champignons; la conception appuyée par les auteurs qui classent les Bactéries parmi les Flagellés; l'opinion soutenue par certains auteurs qui incorporent ces microrganismes aux Cyanophycées; enfin, la théorie de l'hétérogénéité, d'après laquelle les Bactéries constitueraient un groupe de formes diverses (Algues, Champignons, Protozoaires).

Affinités des Bactéries avec les Champignons

Nægeli, de Bary, Cohn rangent les Bactéries parmi les *Champignons*. Cette théorie a été aussi adoptée par Arthur Meyer, qui n'hésite pas à considérer les Bacilles endosporés comme des Ascomycètes. Cette opinion pourrait trouver un appui dans le fait que les Bacilles endosporés rappellent beaucoup, par la forme de leurs cellules et le mode de division, les Levures du groupe des *Schizosaccharomyces*. Le sporange des Bactéries pourrait être assimilé à un asque. La spore des Bactéries se forme, en effet, aux dépens seulement d'une partie du cytoplasme; le reste de ce dernier, qui est utilisé à la nutrition de la spore pendant sa croissance, peut être comparé à l'épiplasme qui entoure les ascospores. Il existe, comme on le sait, beaucoup de Levures qui ne forment qu'une seule ascopore par asque; d'ailleurs, on connaît quelques espèces de Bactéries qui possèdent deux spores dans une même cellule. Enfin, le mode de conjugaison autogamique, décrit par Schaudinn dans le *B. Butschlii*, serait un argument important en faveur de cette conception. Mais la présence de cils existant dans beaucoup de Bactéries et l'absence d'un noyau ne sont pas compatibles avec cette théorie. Quant à la conjugaison décrite par Schaudinn, elle n'a pas été retrouvée par Dobell, ni par nous.

D'autres Bactéries, il est vrai, possèdent des caractères qui permettraient de les rapprocher des Champignons. C'est ainsi que le Bacille de la diphtérie et le Bacille de la tuberculose présentent souvent des ramifications qui les rapprochent des *Actinomyces*, que l'on classe généralement dans le groupe des Champignons.

Kirchenteins, qui a soutenu récemment cette théorie, s'est appuyé pour cela sur les caractères des formes d'involution des Bactéries, auxquels il attache une grande importance phylogénétique. Cet auteur considère les formes d'involution comme des formes ataviques. Comme celles-ci sont souvent filamenteuses et rappellent quelque peu

les formes des Champignons, il admet que les Bactéries doivent être classées parmi les Champignons.

Nous avons vu au cours de notre exposé que les formes d'involution, très fréquentes chez les Bacilles, apparaissent généralement après la sporulation. Dans la plupart des espèces, les formes d'involution présentent des aspects très divers; certaines ressemblent dans une certaine mesure à des Spirilles; d'autres sont filamenteuses; elles présentent des dimensions sensiblement plus volumineuses que les cellules normales et constituent des cellules géantes.

Lorsqu'on ensemence ces formes d'involution sur un nouveau milieu nutritif, on constate qu'elles reprennent les formes caractéristiques des Bacilles normaux.

Il semble que l'apparition de ces formes d'involution soit en relation avec les variations qui se produisent dans la composition du milieu de culture. Guignard et Charrin ont ajouté au milieu nutritif, sur lequel le Bacille pyocyanique a été ensemencé, différents antiseptiques dont la dose est compatible avec le développement du microbe, et ils ont observé que le Bacille pyocyanique acquiert une grande variabilité de formes : rondes, formes spiralées, etc. Gessard a obtenu au sujet du Bacille pyocyanique, par des procédés analogues (addition d'antiseptiques au milieu), des résultats semblables à ceux de Guignard et Charrin.

Hansen a montré que des changements de température sont susceptibles de produire une modification morphologique des cellules de *Bacterium Pasteurianum* et *Bacillus aceti*. En cultivant ces espèces à la température de 40° l'auteur constate que les cellules se renflent dans leur région médiane, tandis que leurs extrémités s'allongent en filaments. En transportant de telles cellules dans un nouveau milieu, à la température ordinaire, celles-ci reprennent leur aspect normal : la partie renflée dégénère, tandis que les parties filamenteuses se cloisonnent pour donner naissance à de nouveaux Bacilles. L'apparition de formes filamenteuses a été provoquée par Arloing, dans les cultures du Bacille de la tuberculose, en les laissant végéter à la température de 45°. Martin a déterminé la formation de cellules filamenteuses du Bacille diphtérique en cultivant ce dernier sur du bouillon recouvert d'une légère couche d'huile. Le voile composé de filaments se développe à la surface de séparation des deux liquides.

De ces formes atypiques des Bacilles on peut rapprocher les cellules actinophytes du Bacille tuberculeux. Les vieilles cultures du Bacille de Koch renferment des cellules massuées que l'on rencontre aussi dans les lésions pulmonaires. Babès et Levaditi ont constaté l'apparition de formes massuées en inoculant le Bacille tuberculeux humain dans le cerveau de lapin.

Hansen a obtenu des formes ramifiées du *Saccharomyces Carlsbergensis* formant un vrai mycelium en cultivant cette Levure dans du moût à 7°. Quand cette espèce croît au voisinage du minimum ou du maximum de température, Hansen a constaté la présence d'un grand nombre de cellules géantes. Enfin, Bach a établi que les cellules géan-

tes de l'*Aspergillus niger* apparaissaient quand le milieu de culture possédait un degré d'acidité plus grand que p. H = 4.

On voit donc que l'apparition des formes d'involution des cellules ramifiées ou massuées est en relation avec le changement des conditions de milieu et que l'on ne peut pas se baser sur de pareilles variations morphologiques pour invoquer une relation phylogénétique entre les Bactéries et les Champignons. Mais encore ici, l'*absence de noyau* dans les formes d'involution constitue une objection importante contre cette manière de voir.

Il semble donc que l'on doive renoncer à classer les Bactéries parmi les Champignons.

Relations taxinomiques des Bactéries avec les Flagellés.

Une deuxième théorie a été proposée par Bütschli, qui rapproche les Bactéries des Flagellés. Il est certain que quelques formes très spéciales, comme *Chromatium Okeni*, ressemblent à tous égards aux Flagellés, mais elles ne possèdent pas de noyau, et si l'on considère les autres Bactéries, dont la majorité s'écartent très notablement des Flagellés, il est difficile de se rallier à cette théorie qui, d'ailleurs, ne compte plus actuellement aucun adhérent.

Théorie d'après laquelle les Bactéries doivent être classées parmi les Oscillaires.

La théorie soutenant l'incorporation des Bactéries aux Cyanophycées, qui a été admise par Van Tieghem, est aujourd'hui classique. On a invoqué en sa faveur le cas des *Beggiatoa* et des *Leuconostoc*. Il est incontestable que le *Leuconostoc* rappelle beaucoup les *Nostoc*, par la forme de son thalle. D'autre part, les *Beggiatoa* et les *Cladothrix* ont une ressemblance évidente avec les Oscillariées aussi bien par leur mouvement que par l'aspect de leur thalle. Les recherches de Bütschli, de Mitrophanow, de P.-A. Dangeard, sur les Sulfuraires, ont abouti à la conclusion que ces Bactéries posséderaient un corps central analogue à celui des Cyanophycées. La découverte de l'*Oscillospira Guilliermondi* par Chatton est venue apporter sûrement une nouvelle preuve en faveur de cette théorie. Grassé admet que l'*Oscillospira* constitue une forme intermédiaire entre les Bactéries et les Oscillaires. Cet organisme présente un thalle dont l'aspect est celui d'une Oscillaire, et une endospore, analogue à celle des Bacilles endosporés.

Or, un des principaux résultats de nos recherches a été de démontrer que cette théorie n'est pas acceptable.

En effet, on a vu que nos recherches sur les Sulfuraires confirment et étendent les résultats de Guilliermond et ne nous ont jamais permis de confirmer l'existence du corps central décrit par Bütschli. Les Sulfuraires ont, en effet, une structure tout à fait semblable à celle des autres Bactéries : on ne rencontre chez les Sulfuraires que

des granulations chromophiles disséminées dans le cytoplasme, et si l'on veut supposer dans la cellule de ces microrganismes l'existence d'un équivalent du noyau, il faut admettre que l'ensemble de ces granulations constitue un noyau diffus.

Quant au *Leuconostoc*, on a vu que ce dernier ne renferme pas de corps central et montre une structure tout à fait différente de celle des *Nostoc*, desquels il se distingue par d'autres caractères; de même que Crown et Violle, nous n'avons pas rencontré d'arthrospores ni d'hétérocystes. Les cellules plus volumineuses ont à tous égards les mêmes caractères et la même structure que ceux des autres éléments; on ne saurait donc considérer le *Leuconostoc* comme une Nostocacée.

Il n'en est pas de même de l'*Oscillospira Guilliermondi*, qui ressemble à une Oscillaire et dans laquelle nous avons mis en évidence un corps central tout à fait analogue à celui des Cyanophycées. Cette espèce est donc tout à fait distincte des Bactéries et doit être considérée par ses caractères morphologiques et cytologiques comme une Cyanophycée ayant perdu son pigment par suite d'une adaptation au parasitisme. La cellule de cette espèce possède cependant une endospore qui rappelle celle des Bactéries, mais il s'agit là d'un caractère qui a sans doute moins d'importance que la présence d'un corps central. En effet, les Bactéries ne sont pas les seuls organismes qui possèdent des spores internes: le mode de formation des ascospores dans les Levures rappelle beaucoup celui des Bactéries, et cependant, il n'existe, comme on l'a vu, aucune relation entre ces groupes de Végétaux; il semble ainsi qu'il n'y ait pas une différence essentielle entre les spores internes de l'*Oscillospira* et les arthrospores des *Nostoc*.

Nos recherches démontrent donc qu'en dehors de l'*Oscillospira*, qui doit être rangée dans les Cyanophycées, les Bactéries ne présentent avec ces dernières que des ressemblances purement superficielles; ces deux groupes ont une structure cellulaire bien différente. Cette conclusion est donc en harmonie avec l'opinion qu'a émise récemment Guilliermond. Cet auteur, en se basant sur les résultats obtenus dans l'étude des *Beggiatoa*, a en effet affirmé qu'il n'existait pas de relations taxinomiques entre les Sulfuraires et les Algues.

On ne saurait donc accepter la théorie classique, qui n'est en aucune manière justifiée, et l'on doit convenir qu'il n'existe entre les Bactéries et les Cyanophycées que des rapports lointains.

Théorie d'après laquelle les Bactéries constitueraient un groupe très hétérogène.

On se rend compte qu'il est difficile d'établir les affinités des Bactéries avec les autres groupes de Cryptogammes. On peut donc faire de ces microrganismes un groupe spécial. Guilliermond, qui a adopté cette manière de voir, a d'abord considéré les Bactéries comme un embranchement provisoire et hétérogène, constitué par des formes appartenant peut-être à des groupes très divers. Les unes, telles que

les Sulfuraires, se rattacheraient aux Cyanophycées, les autres, comme les Spirochètes, aux Protozoaires; certaines Bactéries (Bacille de la tuberculose) devront être incorporées aux Champignons. Enfin, les affinités des autres espèces (*Cocci*, Bacilles endosporés, Spirilles) seraient inconnues.

Cette conception ne paraît pas être acceptable, car il semble que les travaux récents n'ont pas vérifié le rapprochement des Spirochètes avec les Trypanosomes. Il résulte des travaux de Dobell, de Hollande, de Zuelzer et d'autres auteurs, que les Spirochètes ne possèdent pas de membrane ondulante vraie, pas de filament bordant, ni de blépharoplaste; ils seraient donc à rapprocher des Spirilles.

Les Sulfuraires, le *Leuconostoc*, que l'on aurait pu considérer comme des Cyanophycées, sont différentes de ces Algues : nos recherches établissent que les Sulfuraires ont une structure qui les sépare nettement des Cyanophycées.

D'autre part, le Bacille diphtérique ne peut être rapproché des Champignons, comme le pensent certains auteurs, car ce microbe offre la même structure que celle des autres Bactéries. Quant au Bacille de la tuberculose, nous ne pouvons nous prononcer d'une manière catégorique en raison de la petitesse des images; mais il semble bien que le Bacille tuberculeux est dépourvu de noyau.

Les Actinomycètes étudiés paraissent, au contraire, présenter les caractères des Champignons, car ils possèdent un mycelium cloisonné dont les cellules, ainsi que les conidies, semblent contenir un noyau. Mais le petit diamètre de ces filaments ne permet pas d'avoir une opinion définitive au sujet de la position systématique de ces Végétaux. On peut néanmoins les considérer provisoirement comme des Champignons.

Comme les Bactéries ne peuvent être actuellement incorporées ni aux Algues, ni aux Champignons, dont elles se distinguent, et que leurs affinités systématiques restent inconnues, il semble légitime d'en faire un embranchement spécial que l'on pourrait peut-être rapprocher à la fois des Flagellés et des Cyanophycées.

Les Bactéries constituent donc un groupe homogène et nous confirmons par une étude systématique et précise la conception de Migula, qui considérait les Bactéries comme formant un groupe à part.

IV. CONCLUSIONS

L'étude que nous avons faite sur un grand nombre de Bactéries appartenant aux types les plus variés, au moyen de méthodes cytologiques différentes, nous amène aux conclusions suivantes :

1° Il nous a été impossible de mettre en évidence la présence d'un noyau chez toutes les espèces étudiées. Les corps décrits, considérés par certains auteurs comme des noyaux, n'ont pas les caractères de ces derniers; dans la plupart des cas, ce sont des formations transitoires qui apparaissent sous forme de corps homogènes n'ayant pas la structure des noyaux. Nos recherches démontrent que ces corps correspondent à des corpuscules métachromatiques qui se colorent parfois par l'hématoxyline ferrique, constamment par la méthode de Giemsa : ils peuvent donc être confondus avec des noyaux. Dans d'autres cas, les corpuscules décrits comme des noyaux sont les granules chromatiques qui donneront naissance à des cloisons transversales : celles-ci se teintent en effet par l'hématoxyline au début de leur formation;

2° Nos recherches démontrent d'une manière très précise que les Bactéries ne renferment pas d'éléments chromophiles comparables au corps central des Cyanophycées. D'autre part, la spirale chromatique, décrite chez certaines espèces, correspond aux trabécules cytoplasmiques séparant les vacuoles disposées en une seule file;

3° La théorie de la cellule noyau est inadmissible;

4° Les Bactéries que nous avons observées présentent, pour la plupart, au moins à certaines phases de leur développement, de petits grains chromatiques, dont les caractères sont assez analogues à ceux de la chromatine; ces grains ne semblent pas, d'autre part, devoir être considérés comme des mitochondries. Chez les Bacilles endosporés, ces granulations se condensent parfois en un corpuscule arrondi, fortement chromatique, qui ressemble beaucoup à un noyau. Le corpuscule grossit peu à peu, puis s'entoure d'une membrane qui ne permet plus de colorer la spore par les méthodes ordinaires. Dans quelques Bacilles, cependant, les granulations chromatiques font défaut; le cytoplasme est homogène. En ce cas, l'ébauche de la spore apparaît directement au sein du cytoplasme sous la forme d'un corpuscule colorable.

Etant donné que toute cellule renferme un noyau et que cet organe joue un rôle essentiel dans la vie cellulaire, il est difficile d'admettre la théorie de l'absence du noyau. On peut donc penser, avec Schaudinn et Guilliermond, que les Bactéries auraient un noyau diffus. La chromatine serait disséminée dans le cytoplasme et pourrait, à certains moments, se précipiter sous forme de grains chromatiques qui, en se fusionnant, constituent l'ébauche de la spore; celle-ci serait presque exclusivement formée de chromatine. Dans quelques cas, la

chromatine serait intimement mélangée au cytoplasme et n'apparaîtrait jamais à l'état de granulations; elle se précipiterait directement pour former l'ébauche de la spore. Le fait que cette dernière ressemble à un noyau est en faveur de cette supposition.

Il s'agit là d'une hypothèse nécessaire pour expliquer l'absence d'un noyau;

5° Les Bactéries renferment très fréquemment des corpuscules métachromatiques qui résultent de la précipitation d'une métachromatine se trouvant à l'état de solution colloïdale dans les vacuoles. Ces corpuscules se colorent par la méthode de Ramon y Cajal, utilisée pour différencier l'appareil de Golgi. Les Bactéries renferment donc un vacuome dont la présence paraît être constante, des globules de lipoïdes et du glycogène;

6° L'existence d'un chondriome n'a pas été constatée. Il est possible que celui-ci existe et ne soit pas visible en raison des petites dimensions des cellules, peut-être aussi fait-il défaut; en ce cas, on pourrait admettre à titre d'hypothèse que la substance mitochondriale serait diffuse dans le cytoplasme;

7° Le Bacille de la tuberculose et le Bacille de la diphtérie, types spéciaux, qui ont été considérés par certains auteurs comme des Champignons, ne se distinguent pas cytologiquement des autres Bactéries et ne possèdent pas de noyau. Par contre, certaines de nos observations sembleraient indiquer que les cellules des *Actinomyces* renferment un noyau et sont peut-être à rapprocher des Champignons, mais la petitesse de ces microrganismes ne nous a pas permis de nous prononcer d'une manière précise et définitive.

Les Sulfuraires, le *Leuconostoc*, qui ont une grande ressemblance morphologique avec les Cyanophycées, ne renferment pas de corps central et possèdent une structure qui ne rappelle en rien celle des Cyanophycées et qui est en tout point semblable à celle des autres Bactéries.

Au contraire, les cellules de l'*Oscillospira Guilliermondi* renferment un corps central caractérisé; elle doit être considérée comme une Oscillaire ayant perdu son pigment par adaptation au parasitisme;

8° Au point de vue taxinomique, nos recherches ont montré dans toutes les Bactéries étudiées une structure semblable. Nous sommes donc conduit à considérer les Bactéries comme constituant un groupe homogène dont il y a lieu de faire un embranchement spécial. Les Bactéries ont une structure tout à fait différente des Cyanophycées et le rapprochement que l'on a établi entre elles et les Algues n'est pas fondé. Seule, l'*Oscillospira* doit être rattachée aux Cyanophycées.

Les affinités systématiques des Bactéries restent inconnues : on peut placer ce groupe à part, peut-être au voisinage des Cyanophycées et des Flagellés.

BIBLIOGRAPHIE

ABBOTT et GILDERSLEEVE. — On the branching occasionnally exhibited by *Bacillus diphtériæ*. *Centrabl. f. Bakt., I, Origin., t. 35, 18 déc. 1903.*

ALEXEIEFF. — Sur la structure des bactéries. Les mitochondries et les grains métachromatiques chez les bactéries et quelques autres protistes. *C. R. Soc. Biol., 13 oct. 1923.*

— Sur la question du noyau chez les bactéries. Contribution à l'étude des mitochondries et des grains. *Archiv. f. Protistenkunde, t. XLIX. 1924.*

AMATO. — Ueber die feine Struktur der Bakterien. *Centr. f. Bakt., t. 48, n° 4, 17 déc. 1908.*

AMBROZ (ADOLPH). — Entwickelung des *Bacillus nitri.* nov. sp. als Beitrag zur Cytologie der Bakterien. *Central. f. Bakt., Abt. I, Bd. 51. 1909.*

ARLOING et RICHARD. — Sur la coloration vitale des corpuscules métachromatiques du bacille diphtérique. *C. R. Soc. Biol., 23 février 1920.*

— Apparition de corpuscules métachromatiques chez les bacilles pseudo-diphtériques. Conditions de cultures favorisantes. *C. R. Soc. Biol., 15 mars 1920.*

— Polymorphisme du bacille tuberculeux. Revue du « *Journal de la Tuberculose* », *n° 4; août 1925.*

— Sur les corpuscules métachromatiques des Corynébactéries (bacilles diphtériques et pseudo-diphtériques). *Revue gén. de Botanique, t. 32, p. 88, 1921.*

BABÈS. — *Beobachtungen über die metachromat.* Körper. *Zeit. f. Hyg., t. 20, p. 412. 1895.*

BACH. — Variation de la concentration des ions H au cours de l'assimilation des sels ammoniacaux d'acides forts par l'*Aspergillus repens.* DE BARY. *C. R. Ac. Sc., 179, p. 1085.*

— Contribution à l'étude de la nutrition azotée de l'*Aspergillus repens. Thèse doctorat Sciences.*

BEAUVERIE et GUILLIERMOND. — Note préliminaire sur les globoïdes. *C. R. Ac. Sc. 1906.*

BEAUVERIE. — Les corpuscules métachromatiques du bacille diphtérique. *C. R. Soc. Biol. 1917.*

— Le symplasme bactérien existe-t-il ? Cas de l'*Azobacter. C. R. Ac. Sc juin 1925.*

— Polymorphisme et place dans la classification de l'*Azobacter chroococcum. Congrès Ac. des Sciences. 1925.*

— Sur la formation des corps endogènes dans les cellules de l'*Azobacter chroococcum. Bull. Soc. Bot. nov.-déc. 1925.*

BEZANÇON et PHILIBERT. — La structure du bacille tuberculeux. *Journal de la Société d'études scientifiques sur la tuberculose. 12 mars 1914.*

Bessuletz. — La question du noyau des bactéries. *Centralbl. f. Bakt., I, t. XCVI, p. 177. 1925.*

Bohnslav Rayman et Karel Kruis. — Les noyaux des bactéries. *Bulletin de l'Académie des Sciences de Bohême. 1903.*

Borrel et Mlle Cernodoeanu. — Membrane ondulante de *Spirochæte Balbianii* (*Trypanosoma Balbianii*). *C. R. Soc. Biol., t. LXII. 15 juin 1907.*

Bunge. — Ueber Sporenbildung bei Bakterien. *Fortschr. d. Med., t. 13. 1895.*

Bütschli. — Ueber den Bau der Bakterien und verwandter Organismen. Leipzig. 1890.

— Bemerkungen über Cyanophyceen une Bakteriaceen. *Archiv. f. Protistenkunde, t. 1. 1902.*

Calmette. — L'infection bacillaire et la tuberculose. Masson.

Camus et Pagniez. — Propriétés acido-résistantes des acides gras du bacille tuberculeux. 1905.

Ciaccio. — Sur l'acido-résistance du Bacille de Koch. *C. R. Soc. Biologie, t. LX, 24 mars 1906, p. 585.*

Chatton et Pérard. — Schizophytes du cæcum du cobaye. I, *Oscillospira Guilliermondi, n. g., n. sp.*; II, *Metabacterium polyspora, n. g., n. sp. C. R. Soc. Biol., t. LXXIV. 31 mai et 7 juin 1913.*

Corsini. — Ueber die sogenannten. Schwefelkörnchen die man bei der Familie der *Beggiatoaceae* antrifft. *Centr. f. Bakt., II, t. XIV, 30 mars 1905, p. 272-289.*

Conte et Vaney. — Sur des émissions nucléaires observées chez les Protozoaires. *C. R. Ac. des Sc., t. 135. 1903.*

Crown. — The structure and affinities of *Leuconostoc mesenteroïdes* (Cienkowsky), van Tieghem. *Bristich mycological Soc., vol. 8,parts 1 and 2. 14 déc. 1922.*

Dangeard (P.-A.). — Note sur la structure d'une bactérie, le *Chromatium Okeni. Bulletin de la Soc. Bot. de France, t. 56, n° 3. 1909.*

— Observations sur un *Saprolegnia. Bulletin Soc. Mycologique de France, p. 90. 1916.*

— Note sur les corpuscules métachromatiques de Levures. *Bulletin Soc. Mycologique de France, t. 17, p. 27.*

— La métachromatine chez les Mucorinées. *Bulletin Soc. Myc. France, t. XXXII. 1916.*

— La métachromatine des Algues et des Champignons. *Soc. Bot. de France. 1916.*

Darsine. — L'imprégnation à l'argent des bacilles tuberculeux et du bacille bilié de Calmette et Guérin, (B.C.G.). *C. R. Soc. Biol. 20 juin 1926. t. XCV, p. 194.*

Debaisieux. — Recherches sur les Coccidies. *La Cellule, t. 27, 2e fasc. 15 déc. 1910.*

Dobell. — Researchs on the Spirochæts and related organisms. *Archiv. f. Protistenkunde, t. XXVI. 1912.*

Dobell. — Contribution to the cytology of the Bacteria. *The quart journ. of microscop. Sc.* n° *2223, vol. 56, avril 1911.*

— On *Cristispira veneris, nov. sp.* and the affinities and classification of Spirochætes. *The quart jour, of micriscospical Sc., avril 1911.*

— *Paraspirillum Vejdowskii ng., n. sp. Archiv. für Protistenkunde, t. XXIV, fig. 2. 1911.*

— On the Systematic Position of the Spirochæts. *Proc. Roy. Soc., t. LXXXV, 1912.*

Douglas et Diastaso. — Etude sur le noyau des bactéries : 1° mémoire sur un nouveau bacille dont le noyau est évident. *Central. f. Bakt., I., t. 63, 6 avril 1912.*

Dufrénoy et Molinéry. — Les Sulfuraires. (*L'Expànsion scientifique française*) *1922.*

Dufrénoy. — Les Sulfuraires, les Barégines et les Ferro-bactériacées de quelques eaux thermales. *Annales de l'Institut d'Hydrologie et de Climatologie (Collège de France), n° 1. 1926.*

Ellis. — Untersuchungen über *Sarcina, Spreptococcus* und *Spirillum. Centralbl. f. Bakt, Bd. 33. 1903.*

Erdmann. — Kern und metachromatische Körper bei Sarcosporidien. *Arch. f. Protist. 1910.*

Ernst. — Ueber den *B. xerosis* und seine Sporenbildung. *Zeit. f. Hyg. Bd. 4, p. 25. 1888.*

— Ueber Kern und Sporenbildung bei Bakterien. *Zeit. f. Hyg. Bd. 5, p. 428. 1889.*

Fantham. — *Spirochæte (Trypanosoma) Balbianii Certes* and *Spirochæte anodontæ. Quart journ. of. microcopical Science, vol. 52. 1908.*

Fantham et Annie Porter. — The modes of division of *Spirochæta recurrentis* and *Sp. Duttoni* as observed in the living organims. *Roy. Soc., 26 juillet 1909.*

Federowich. — Ueber die Körnigkeit der Bakterien. *Centr. f. Bakt., Ab. 2, Bd. 8, p. 481. 1902.*

Fischer. — Untersuchungen über der Bau der Cyanophyceen und Bakterien. *Iéna. 1897.*

Foëx. — Les *Fibrinkörper* de Zopf et leurs relations avec les corpuscules métachromatiques. *C. R. de l'A. des Sciences, p. 661, oct. 1912.*

Fontès. — Perte de l'acido-résistance et désagrégation granulaire du Bacille de Koch dans les vieilles cultures. *Mémoire In. Osw Cruze, p. 181, 5. 1923.*

Fourment. — Sur la structure des *Thiothrix. C. R. Soc. Biol., 11 mai 1926.*

Freinbérg. — Ueber den Bau der Bakterien. *Anatomischer Anzeiger, t. 17. 1900.*

Frenzel. — Der Zellkern und die Bakterienspore. *Zeit. f. Hyg., 1891, p. 757.*

— Ueber den Bau und die Sporenbildung grüne Kaulquappenbacillen. *Zeit. f. Hyg., p. 207. 1892.*

Frouin et Guillaume. — Absence d'acides gras libres dans le bacille tuberculeux, *C. R. Soc. Biol., t. 89, 30 juin 1923.*

Gauss. — Babès-Ernstchen Köperchen und Virulenz bei Bakterien. *Centr. f. Bakt., Abt. I, Bd. 31, p. 92.*

Georgewitch. — *Bacillus thermophilus Jivoini, nov. sp.*, und *Bacillus thermophilus Losaniteni, nov. sp. Centr. f. Bakt., Abt. 2, Bd. 27, p. 150. 1910.*

— Formation et germination des spores du *Bacillus thermophilus vragnensis. C. R. Ac. Sc., 30 oct. 1911.*

Gessard. — De la pyocyanine et son microbe. Thèse, Paris 1882.

Glaubitz. — Ueber Volutin und Nucleinsaüre in verschiedenen Hefen. *Biochm. Zeitchr. 1923.*

Goris. — Analyse du bacille tuberculeux. *Ann. Institut Pasteur, août 1920.*

Grassé. — Notes protistologiques. I. Sporulation des Oscillospiracées; II. le genre *Alysiella* Langeron. *Archives de Zoologie expérimentale, t. LXII. 1924.*

Grimme. — Die wichtigen Methoden der Bakterienfarbung und ihre Wirkung auf die Membran, den Protoplasm und die Einschlusse der Bakterienzelle. *Centr. f. Bakt., Abt. I, Bd. 32, p. 1.*

Gross. — *Cristispira*, nov. g. Ein Beitrag zur Spirochætenfrage. *Zool. Sta. Neapel, Bd. 20, p. 41. 1910.*

Guignard et Charrin. — Sur les variations morphologiques des microbes. *C. R. Ac. Sc., 5 déc. 1887.*

Guilliermond (A.). — Recherches sur la structure de quelques Champignons inférieurs. *C. R. Ac. Sc. 1901.*

— Recherches cytologiques sur les Levures et quelques Moisissures à forme Levure. *Thèse de doctorat. Paris 1902.*

— Sur la présence de corpuscules métachromatiques dans les bactéries. *Lyon Médical, 13 juillet 1902.*

— Contribution à l'étude de l'épiplasme des Ascomycètes et recherches sur les corpuscules métachromatiques des Champignons. *Ann. de Mycologie. t. 3. 1903.*

— A propos de la communication de M. Behring au Congrès de la tuberculose. *Lyon Médical, 23 oct. 1905.*

— Contribution à l'étude cytologique des Cyanophycées. *Revue générale de Botanique, t. 18. 1906.*

— Les corpuscules métachromatiques ou grains de volutine. *Bull. Inst. Pasteur, t. 4. 1906.*

— Contribution à l'étude histologique des bactéries. *C. R. Ac. Sc., 5 juin* pignons. *C. R. Soc. Biol. 1906.*

— Nouvelles recherches sur les corpuscules métachromatiques des Champignons. *C. R. Soc. Biol. 1906.*

— La cytologie des bactéries. *Bull. Inst. Pasteur, t. 4, n° 748, 1907.*

— Remarques sur la structure des bacilles endosporés. *C. R. Soc. Biol., t. 62, p. 78, 19 janvier 1907.*

— Contribution à l'étude cytologique des bacilles endosporés. *Archiv. f. Protistenkunde, t. 12, 1908.*

GUILLIERMOND. — Recherches cytologiques sur la germination des graines de quelques graminées. *Archiv. d'Anatomie microscopique, t. 10. 1908.*

GUILLIERMOND et MAVAS. — Caractères histochimiques des granulations des mastzellen et le rapport de ces corps avec la volutine des Protistes. *C. R. Soc. Biol. 1908.*

GUILLIERMOND. — Observations sur la cytologie d'un bacille. *C. R. Soc. Biol. t. 67. p. 102. 10 juillet 1909.*

— A propos des corpuscules métachromatiques ou grains de volutine. *Archiv. f. Protistenkunde, Bd. 19. 1910.*

— A propos de la structure des bacilles endosporés. Réponse à M. Mencl. *Arch. f. Protistenkunde, t. 19, pp. 1-18. 1910.*

— Les levures. *Doin, 1910.*

— Nouvelles recherches sur les corpuscules métachromatiques. *C. R. Soc. Biol., 16 déc. 1916.*

— Elements of microbial cytology, chap. 4, p. 87. A text book of microorganims general and applied. *Marschalls, 1917.*

— Les constituants morphologiques du cytoplasme d'après les recherches de cytologie végétale. *Bull. Biol. de France et de la Belgique, t. LIV, fasc. 3-4.*

— Sur la métachromatine et les composés phénoliques. *C. R. Ac. Sc. 1918.*

— Sur la métachromatine des champignons. *C. R. Soc. Biol. 1920.*

— Les bactéries ont-elles un noyau. *Mikrokosmos. Cahier 3, 1919/20. Stuttgart.*

— Sur les éléments figurés du cytoplasme chez les végétaux : chondriome, appareil vacuolaire et granulations lipoïdes. *Archiv. de Biologie, tome 31, 1921.*

— Quelques remarques nouvelles sur la structure des Levures. *C. R. Soc. Biol. 1923, p. 517.*

— A propos de la structure des Cyanophycées. *C. R. Soc. Biol., 12 déc. 1925.*

— Nouvelles recherches sur la structure des Cyanophycées. *Rev. gén. de Bot., t. XCV. 1925.*

— Sur la structure des *Beggiatoa* et des Cyanophycées. *C. R. Soc. Biol., p. 579. 1926.*

GUILLIERMOND et MANGENOT. — Revue des travaux de cytologie parus de 1910 à 1925. *Revue gén. de Bot. 1926-1927.*

GUSTEIN. — Sur le noyau et la structure des bactéries. *Centr. f. Bakt., pp. 357-387, 1925.*

HANSEN. — Contribution à la connaissance des organismes du moût de bière et de la bière. *Copenhague. 1879.*

HARTMANN et MUHLENS. — Ueber *Bacillus fusiformis* und *Spirochæta dentium. Zeit. f. Hyg., Bd. LV. 1906.*

HENNEBERG. — Ueber das Volutin (metachromatischen Körperchen) in der Hefezelle. *Centr. f. Bakt., II, t. XLV, 1916.*

HERWERDEN (van). — Ueber die Nuclease als Reagens auf Nukleinsaüerverbindungen der Zelle, *Anat. Anz. 1914.*

Herwerden. - Ueber das Volutin and seine chemische Zusammensetzung. *Folia microbiologica. 1917.*

Hinze. — Ueber den Bau der Zellen von *Beggiatoa mirabilis. Cohn's. Ber deut. bot. Gesell., Bd. 19. 1901.*

— *Thiophysa volutans*, eine neue Schwefelbakterie. *Ber deut. Gesell. Bd. 21, p. 306. 1903.*

Hollande. — Contribution à l'étude des Spirochétacées. Structure histologique de *Critispira tapetos* (Schellak). Formation du kyste. *Arch. Zool. exp. et gén., p. 299. 1924.*

Holling. — *Spirillum giganteum und Spirochæte Balbianii. Centr. f. Bakt., Abt. I, Bd. 44, p. 665.*

— Die Kernverhältnisse von *Fusiformis termitidis. Archiv. f. Protisten., p. 239. 1910.*

Hueppe. — Die Formen der Bakterien. 1886.

Johnson. — The morphology and reaction of *Bacillus megatherium. Centr. f. Bakt. 16 sept. 1911.*

Joyet-Lavergne. — Sur le cytoplasme des Sporozoaires. *Thèse de Doctorat ès-Sciences, Paris. 1925.*

Kirchensteins. — Structure et mode de développement des bactéries. *Travaux du labor. de Latvie. 90 p., Riga. 1922.*

— Sur la structure et le mode de développement du bacille tuberculeux. *Ann. Inst. Pasteur, n° 5. 1922.*

— Morphologie, développement et signification des formes bactériennes dégénérées. *Riga. 1923.*

— Sur la morphologie et le développement atypique des bactéries. *C. R. Soc. Biol., t. 88, 1923, p. 716.*

Kohl. — Die Hefepilze. *Leipzig. 1908.*

Krompecher. — Untersuchungen uber das Vorkommen metachromatischer Körnchen bei sporentragenden Bakterien und Beitrag zur Kenntnis des Babès-Ernstchen Körperchen. *Central. f. Bakt., Abt. I, Bd. 30, p. 385. 1901.*

Kruis (K). — Mikrophotographie der Strukturen lebender Organismen ins besondere der Bakterienkerne mit ultravioletten Licht. *Acad. d. sc. de Bohême. 1913.*

Krzystalowicz et Siedlecki. - Etude expérimentale de la Syphilis. Morphologie de *Spirochæta pallida. Bull. Ac. Sc. de Cracovie, p. 173. 1908.*

Künstler et Bousquet. — Recherches sur les grains rouges. *C. R. Ac. Sc., t. 128. 1897.*

Künstler. — Observations sur la structure des Bactériacées et des organismes voisins. *1898.*

Künstler et Gineste. — Note sur un Spirille. *C. R. de l'Association des Anat., 6e session, Toulouse, avril 1904.*

— *Spirillum periplanetum. C. R. Soc. Biol., t. 61. 1906.*

Künstler et Gineste. — La structure fibrillaire des Bactériacées. *C. R. Ac. Sc., t. 143. 1906.*

Langeron (M.). — Précis de microscopie, 4e édition, Masson.

Langeron. — Les Oscillariées parasites du tube digestif de l'homme et des animaux. *Ann. de Parasitol., t. 1, n° 1. avril 1923; t. 1, n°2, juin 1923.*

Laveran et Mesnil. — Sur la nature bactérienne du prétendu trypanosome des huîtres, *Trypanosoma Balbianii. C. R. Soc. Biol., LIII, p. 883. 1901.*

Linde P. — Zur Kenntnis von *Cladothrix dichtoma. Centr. f. Bakt., t. 39, 29 nov. 1913.*

Lwoff (André). — Nature et position systématique du bactéroïde de la blatte. *C. R. Soc. Biol., 10 nov. 1923.*

Mac-Callum. — On the Cytology of non nucleated organisms. *Transl. Inst. Toronto., vol. 6, p. 439. 1899.*

Martin (Louis), Loiseau, Gidon. — Production de formes ramifiées du bacille diphtérique. *C. R. Soc. Biol., p. 322. 1924.*

Marx. — Einige Bemerkungen zur Krompecher's Arbeit über metachromatische Körnchen und Babès-Ernstchen Körperchen. *Central. f. Bakt., Abt., I, Bd. 31, p. 107.*

Massart. — Recherches sur les organismes inférieurs et sur le protoplasme des Schizophytes. *Bruxelles. 1901.*

Mencl. — Bemerkungen über den Bau und Entwickelung der Bakterien. *Centr. f. Bakt., Abt. 2, t. 6. 1900.*

— Cytologische Studien über die Bakterien der Prager Wasserleitung. *Centr. f. Bakt., Abt. 2, Bd. 15, p. 544. 1905.*

— Nachträge zu den Strukturverhältnisse von *Bacterium gammari Vedj. Arch. f. Protistenkunde, t. 8. 1907.*

— Ueber den Kern und seine Teilung bei Sarcinen und *Micrococcus ochraceus* (*butyricus*). *Archiv. f. Protistenkunde, tome 19, p. 127. 1908.*

— Die Bakterienkerne und die « Cloisons transversales » Guilliermond's. *Archiv. f. Protistenkunde, Bd. 16, p. 62.*

— Die Kernäquivalent und Kerne bei *Azotobacter chroococcum* und seine Sporenbildung. *Archiv. f. Protist. 1914.*

Mesnil. — Chromidies et questions connexes. *Bulletin de l'Institut Pasteur, 30 avril 1905.*

— Revue des mémoires de Perrin. *Bulletin de l'Inst. Pasteur, tome 4, 1906 et tome 3, 1907.*

Mesnil et Caullery. — Sur un organisme spirochétoïde (*Cristispira polydoræ*, nov. sp.) de l'intestin d'une Annélide Polychète. *C. R. Soc. Biol. 16 déc. 1916.*

Meyer (A.). — Studien über die Morphologie une Entwickelung Geschischte der Bakterien (*Bacillus asterosporus* und *tumescens*), *Flora. t. 84, p. 185. 1897.*

— Orientirende Untersuchungen über die Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins. *Bot. Zeit. 1904.*

Migula. — Ueber den Zelleninhalt von *Bacillus oxalaticus* Zopf. *Archiv.* Bakt. Inst. der Tech. *Hoschschule zu Karlsruhe, t. 1. 1894.*

— Der Bau der Bakterienzelle, 1904, *Lafar's Hand. techn. Myc., 48, Bd. 1.*

Mitrophanow. — Etude sur l'organisation des bactéries. *Journ. d'Anat. physiologique, t. 10, p. 475. 1895.*

Moreau (Mme). — Les corpuscules métachromatiques des Algues, *Bull. Soc. Bot. France. 1913.*

Nadson. — Ueber die Schwefelbakterien *Thiophysa* and *Thiospherella. Journ. de Microbiologie, I. 1914.*

Nadson et Wislough. — La structure et le mode de vie de la bactérie géante *Chromatium oxaliferum. Bull. Jardin Bot. Pétrograd, t. 22. 1923.*

Nakanischi. — Ueber den Bau der Bakterien. *Central. f. Bakt. Abt. 1, t. 30. 1901.*

Nadson et Perfiliev. — Sur la structure du protoplasme chez l' « *Achromatium oxaliferum* », Bull. du Jardin Botanique de Pétrograd, t. XXII. 1923.

Nello Mori. — Di uno nuovo batterio e di molti altri battero nei quali puo provocori l'individuozione di un nuclei tipico. *Ann. Sta mallatie del bestiame, t. I, Napoli, 1913.*

Neukirch. — Ueber Strahlenpilze. 1902.

Paillot. — Les maladies bactériennes des insectes. Librairie spéciale agricole, 180 p. in 8°, 8 pl., Paris 1922.

— Sur deux bactéries des larves de *Neurotoma nemoralis. C. R. Ac. Sc., 7 janvier 1924.*

Pavillard. — Etat actuel de la Protistologie végétale, *Progressus Rei Botanicæ. 1910.*

Péju et Rajat. — Morphologie du bacille de la tuberculose humaine dans les milieux salins. *C. R. Soc. Biol., t. LXIII, pp. 427 et 691.*

Penau. — Cytologie du B. *megatherium. C. R. Ac. Sc., t. 152, 3 janvier 1911.*

— Contribution à l'étude de quelques microrganismes. *Thèse Doct. ès-sciences. Paris 1911.*

— Cytologie du *Bacillus Verdunensis, nov. sp. C. R. Ac. Sc., 5 juillet 1915.*

Perrin. — Researches upon the life history of *Trypanosoma Balbianii. Archiv. f. Protistenk., VII, p. 131. 1906.*

Petit (Albert). — Sur la Cytologie de deux Bactéries. *C. R. Ac. Sc., 27 déc. 1921.*

— Observations cytologiques sur la structure du bacille du charbon et du bacille diphtérique. *C. R. Soc. Biol., 19 juillet 1924.*

— Remarques sur la structure de quelques Bactéries. *Bull. Instit. Pasteur de l'Afrique du Nord, t. III, n° 1. 1923.*

— Contribution à l'étude cytologique et taxinomique des Bactéries. *C. R. Ac. Sc., 15 mars 1926.*

Petschenko (Boris de). — Sur la structure et le cycle évolutif de *Bacillopsis stylopygæ, nov. gen. nov. sp. Bull. intern. de Cracovie, p. 359. 1908.*

— Sur l'appareil locomoteur du *Chromatium Okeni. Arch. f. Protistenkunde, t. 31, 11 déc. 1913, 3 pl.*

— Sur le cycle évolutif du *Chlamydothrix ochracea* (Kutz) Migula; contribution à l'étude de la structure des bactéries. *Archiv. fur Protistenkunde, t. 28. 1913.*

PETSCHENKO. — Cytologie du *Chromatium Okeni. Bull. Ac. Sc. Polon. Sciences, Lettres, Classe science*, série B. 1924.

PODWYSSOZKI. — Zur Morphologie der Choleravibrionen. *Centr. Allg. Pathologie, Bd. 4, p. 673. 1893.*

PRAZMOWSKY. — Die Entwickelungsgeschichte, Morphologie und Cytologie des *Azotobacter chroococcum, Bej. Centr. f. Bakt., 2 mars 1912.*

— Die Zellkerne der Bakterien. *Bull. de l'Ac. des Sciences de Cracovie, série B, avril 1913.*

PROTOPOPOFF. — Sur la question de la structure des bactéries. *Ann. de l'Institut Pasteur, t. 5, p. 332. 1891.*

REICHNOW. — Untersuchungen uber *Hæmatococcus pluvialis. Kais. Gesund., Bd. 33. 1909.*

RICHARD. — Recherches cytologiques expérimentales sur les Corynébactéries (bacilles diphtériques et pseudo-diphtériques). Etude des corpuscules métachromatiques. Thèse de Sciences. 1920.

ROUVILLE (DE). — Technique microscopique. Baillière, 1910.

RUZICKA. — Depressionszustande und Regulationsvorgänge bei dem *Bact. Anthracis. Archi. f. Protist. 1907.*

— Die Cytologie der Sporenbildenden Bakterien und ihr Verhältnis zur Chromidienlehre. *Centralbl. f. Bak., t. 23, 14 mai 1909.*

— Ueber die experimentelle Autogamie der Bakterien. 1910.

— Eine methode zur Darstellung des Strukturfertiger Bakteriensporen, nebs, über das Reifen derselben. *Centrabl. f. Bakt., t. 36, 15-2, 1913.*

SANGIORGI. — Supro una particularita di strulura alumi germi in evidenzo col. di metodo di BURRI. *Pathologico. 1910.*

SCHAUDINN. — Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. *Archiv. f. Protistenkunde, t. 1, 1902.*

— *Bacillus Sporonema. Archiv. f. Protistenk., t. 2, p. 421. 1903.*

— Ueber Generation und Wirtzwechsel bei Trypanosomen und Spirochæten. *Arb. Kais. Amte, Bd. 30, Hefte 3. 1904.*

— Zur Kenntnis der *Spirochæta pallida. Deut. Med. Wochen., p. 1665. 1905.*

SCHEELACK. — Studien zur Morphologie und Systematik der Spirochæten aus Muscheln. *Arb. Kais. Gesundheitamte, Bd. 30, p. 379. 1909.*

SCHUSSING. — Beiträg zur Cytologie der Schizomyceten. *Centralbl. f. Bakt., t. 85, p. 1. 1910.*

SJÖBRING. — Ueber Kerne und Teilungen bei den Bakterien. *Centr. f. Bakt., Bd. II, p. 65. 1892.*

SWELLENGREBEL. — Zur Kenntnis der Cytologie des *Bacillus maximus buccalis. Central. f. Bakt.; Abt. 2. 16. 1906.*

— Sur la Cytologie comparée des Spirochètes et des Spirilles. *Ann. de l'Institut Pasteur, juin-juillet 1907.*

— Zur Kenntnis der Cytologie der Bakterien (*Bacterium binucleatum*). *Central. f. Bakt., t. 19. 1907.*

— Erwiderung auf die Arbeit des Herrn Dr HOLLING. *Spirillum giganteum und Spirochæta Balbianii. Central. f. Bakt., Abt. 2. 1908.*

Swellengrebel. — La volutine des Trypanosomes. *C. R. Soc. Biol., 1908.*

— Weitere Untersuchungen über die vergleichende Cytologie der Spirillen und Spirochæten. *Central. f. Bakt., Abt. I. 1909.*

— Untersuchungen über die Cytologie einiger Fadenbakterien. *Archiv. f. Hyg., p. 380. 1909.*

— Note on the cytology of *Calothrix fusca. Quart. journ. of microscop. Sc., t. LIV. 1910.*

Tieghem (van). — Sur la gomme des sucreries. *Annales des Sciences nat., p. 189. 1878.*

Trambusti et Galeotti. — Neuer Beitrag zum Studien der inneren Strukturen der Bakterien. *Central. f. Bakt., Abt. I, t. II, p. 717. 1892.*

Vejdovsky. — Bemerkungen über den Bau und Entwickelung der Bakterien. *Central. f. Bakt., Abt. 2, Bd. 6, t. 6, p. 577. 1900.*

— Ueber den Kern der Bakterien und seine Teilung. *Central. f. Bakt., Abt. 2, Bd. 11, p. 481. 1904.*

Violle. — Le microbe de la gomme du sucre. *Ann. Instit. Pasteur. Mai 1922.*

Virieux. — Sur l'*Achromatium oxaliferum. C. R. Ac. Sc., t. 154, n° 11, mars 1912.*

Vuillemin. —Les Champignons, Gaston Douin, éditeur.

Wager. — Preliminary note upon the structure of bacterial cells. *Ann. Bot., vol. 9, p. 659. 1895.*

Wager et Peniston. — Cytological observations on the yeast Plant. *Ann. of Bot., vol. 24, n° 93, janvier 1910, p. 46.*

Wagner. — Coli und Typhusbakterien sind einkernige Zelle. Ein Beitrag zur Histologie der Bakterien. *Central. f. Bakt., Abt. I, Bd. 23, p. 433. 1898.*

Warhlich. — Bakteriologische Studien. *Scripta Botanica. St-Peterburg, in Bot. Central., t. 14, p. 123. 1893.*

Weill. — Les granulations de Much. *Revue de la tuberculose, 6 déc. 1913.*

West et Griffiths. — *Hillousia mirabilis*, a great sulphur Bacterium. *Proc. Roy. Soc., p. 338, London 1909.*

Winogradsky. — Beitrag zur Morphologie und Physiologie der Bakterien, *Heft. I, Félix. Leipsig.*

Zettnow. — Ueber den Bau der Bakterien. *Central. f. Bakt., t. 10, p. 689. 1891.*

— Ueber Swellengrebelchromatinbänder in *Spirillum volutans. Centr. f. Bakt., Abt. I, t. XLVI.*

Zickel. — Beitrag zur Volutinvorkommen in Pilze. *Central. f. Bakt. 1921.*

Zuelzer (M^lle^). — *Uber Spirochæta plicatilis* und deren Verwandtschaftschungen. *Archiv. f. Protist. 1911.*

EXPLICATION DES PLANCHES

Planche I

TABLEAU I. — *Chromatium Okeni*

Figure 1. — *Chromatium* vu à l'état vivant. Le pigment est situé surtout à la périphérie; les granulations de soufre sont situées au centre de la cellule.

Fig. 2. Aspect d'une cellule colorée par une solution concentrée d'iodo-iodure; membrane, couche corticale alvéolaire (parfois homogène); on voit une substance hydracarbonée au centre.

Fig. 3. — Cellule observée *in vivo*, dans laquelle le pigment est réparti d'une manière homogène.

Fig. 4. — Coloration vitale des inclusions graisseuses au « nadi »; globules graisseux disséminés dans tout le cytoplasme.

Fig. 5. — Fixation au formol ou au liquide de PERENYI; coloration, soit au bleu de crésyl, soit au bleu de UNNA; corpuscules métachromatiques.

Fig. 6. — Précipités intravacuolaires mis en évidence par la méthode de CAJAL.

Fig. 7. — Cellules fixées au liquide de PERENYI ou de REGAUD, colorées à l'hématoxyline ferrique-érythrosine; granulations sidérophiles disséminées dans le reticulum cytoplasmique.

Fig. 8. — Même méthode de coloration; granulations de soufre, granulations chromatiques intracytoplasmiques et corpuscules métachromatiques.

Fig. 9. — Fixation au liquide de PERENYI; coloration à la safranine et au vert Lumière. On distingue une zone de cytoplasme corticale plus acidophile que la partie centrale; différents aspects observés lors de la différenciation.

Fig. 10. — Cellules, altérées par suite de la plasmolyse, simulant, après coloration, un pseudo-corps central.

Fig. 11. — Protoplasme contracté par suite d'une dessiccation brusque; pseudo-corps central après coloration.

TABLEAU 2

Fig. 1. — *Chromatium Okeni* coloré, après fixation à la chaleur. Le cytoplasme contracté simule un pseudo corps central.

Fig. 2. — Id. Fixation au liquide de REGAUD, coloration à l'hématoxyline ferrique. Cytoplasme, granulations chromatiques et corpuscules métachromatiques, une différenciation plus accentuée montre un cytoplasme alvéolaire typique. Ce dessin est schématique.

Fig. 3. — Id. Cellule, à couche corticale pigmentaire homogène et dépourvue de vacuoles, imprégnée à la méthode de Cajal.

Fig. 5 et 6. — Id. Cellules colorées après fixation au Regaud, comme précédemment; les états de régression sont plus avancés.

Fig. 7. — *Thiothrix nivea* observé vitalement; granulations de soufre.

Fig. 8. — *Thiothrix nivea.* Coloration vitale des inclusions graisseuses par le « nadi ».

Fig. 9. — Id. Coloration post-vitale des corpuscules métachromatiques.

Fig. 10. — Id. Fixation au formol, coloration au bleu de Unna; corpuscules métachromatiques.

Fig. 11. — Id. Coloration des granulations métachromatiques par l'hématoxyline ferrique.

Fig. 12 et 13. — Thalle de *Beggiatoa alba* vu à l'état vivant. Dans certains éléments les granulations de soufre occupent presque toute la cellule.

Tableau 3

Fig. 1. — *Beggiatoa alba.* Granulations graisseuses colorées vitalement au « nadi ».

Fig. 2. — Id. Coloration vitale des corpuscules métachromatiques par le bleu de crésyl.

Fig. 3. — Id. Fixation au liquide de Lenhossek, coloration à l'hématoxyline ferrique; granulations sidérophiles.

Fig. 4 et 5. — Id. Inclusions de soufre.

Fig. 6. — Id. Figure inverse de la précédente. La présence de gros granules de soufre disparus et de vacuoles donne un aspect spécial au filament.

Fig. 7. — Id. Chaque cellule renferme un corpuscule métachromatique, coloré en noir par l'hématoxyline.

Fig. 8 et 10. — *Thiothece;* fixation au liquide de Perenyi ou à celui de Lenhossek, coloration à l'hématoxyline ferrique ou au bleu de crésyl; grains de soufre, granulations chromatiques et corpuscules métachromatiques.

Fig. 9. — Id. Fixation au formol, coloration au bleu de crésyl.

Fig. 11. — *Thiocystis violacea;* coloration à l'hématoxyline ferrique; granulations chromatiques.

Fig. 12. — *Amæbobacter roseus.* Id.

Fig. 13. — *Rhabdochromatium roseum*, coloré vitalement au « nadi »; granulations graisseuses et grains de soufre.

Planche II

Tableau 4

Fig. 1. — Bactérie filamenteuse C, fixée au liquide de Lenhossek, colorée à l'hématoxyline ferrique; granulations chromatiques.

Fig. 2 et 3. — Id. Les cellules dégénérées ne sont pas régressées.

Fig. 4. — Id. Fixation au formol, coloration des corpuscules métachromatiques par le bleu de crésyl.

Fig. 5, 6 et 7. — Bactérie filamenteuse B (trouvée dans l'eau à Sidi-Ahmed-Zeroug, près de Gafsa), fixée au formol, colorée au bleu de toluidine; granulations de métachromatine condensée mettant en évidence le vacuome de la cellule.

Fig. 8. — Id. Fixée au formol; les granulations graisseuses sont colorées au Soudan III.

Fig. 9. — Id. Fixation au liquide de Lenhossek, coloration à l'hématoxyline ferrique; granulations chromatiques.

Tableau 5

Fig. 1, 2, 3 et 4. — Bactérie filamenteuse A; fixation au liquide de Lenhossek, coloration à l'hématoxyline ferrique; granulations chromatiques.

Fig. 5. — Id. Coloration post-vitale de la même espèce, par le bleu de crésyl; cytoplasme et corpuscules métachromatiques.

Fig. 6. — Id. Inclusions graisseuses décelées au moyen du « nadi ».

Fig. 7. — Bactérie filamenteuse D. Filaments colorés à l'hématoxyline; granulations chromatiques.

Fig. 8, 9 et 10. — Id. Différents aspects du cytoplasme et des granulations chromatiques.

Fig. 11, 12 et 13. — Bactérie filamenteuse colorée à l'hématoxyline.

Tableau 6. — *Oscillospira Guilliermondi*

Fig. 1. — Trichome fixé au liquide de Perenyi et coloré à l'hématoxyline ferrique. Le corps central est intensément coloré.

Fig. 2. — Id. Jeune trichome.

Fig. 3. — Id. Trichome coloré par le lugol concentré; le corps central est imprégné d'une substance hydrocarbonée.

Fig. 4. — Id. Trichome avec plusieurs disques disjoncteurs; coupe transversale.

Fig. 5. — Trichome sporulant; quelques métachromatiques autour de la spore.

Fig. 6. — Cellules vues à un grossissement double.

Planche III

Tableau 7

Fig. 1. — Bactérie filamenteuse E. Précipités intra-vacuolaires colorés vitalement en rouge par le bleu de toluidine.

Fig. 2. — Id. Coloration au bleu de toluidine après fixation au formol.

Fig. 3. — Id. Fixation au liquide de Lenhossek; coloration à l'hématoxyline.

Fig. 4. — Bacille endosporé A, examiné vitalement au « nadi »; globules graisseux.

Fig. 5. — Id. Formes d'involution.

Fig. 6. — Id. Cellules examinées sur le vivant; on aperçoit les vacuoles.

Fig. 7. — Id. Spore.

Fig. 8 et 9. — Id. Cellule fixée et colorée; germination.

Fig. 10. — Id. Apparition des vacuoles.

Fig. 11. — Id. Début du développement (7 h.).

Fig. 12-13. — Id. Cellules fixées au moyen de divers liquides, notamment au liquide de Lenhossek, coloration à l'hématoxyline. Chaînettes dont les cellules contiennent des granulations chromatiques; apparition de l'ébauche de la spore et sporulation.

Fig. 14-15. — Cellules contenant l'ébauche de la spore.

Fig. 16 et 17. — Spore achevée.

Tableau 8. — *Formes d'involution du Bacille A, fixées et colorées*

Fig. 1, 3, 5, 7, 8. — Cellules ayant la même structure que les formes normales.

Fig. 4. — Bacilles dont les parois jeunes sont très chromophiles.

Fig. 6, 9, 13, 14. — Cellules dont la coloration partielle est due, soit à la dégénérescence, soit à la présence dans les vacuoles des précipités sidérophiles ayant une ressemblance superficielle avec des noyaux.

Fig. 2, 12, 14, 15. — Cellules à structure cytoplasmique homogène.

Tableau 9

Fig. 1. — Bacille B, trouvé sur l'homme. Coloration post-vitale au bleu de crésyl; granulations chromatiques et spores.

Fig. 2. — Id. Cellules fixées au liquide de Lenhossek et colorées à l'hématoxyline; granulations chromatiques.

Fig. 3, 4, 5. — Id. Sporulation.

Fig. 6. — Bacille du charbon, observé à l'état vivant; vacuoles.

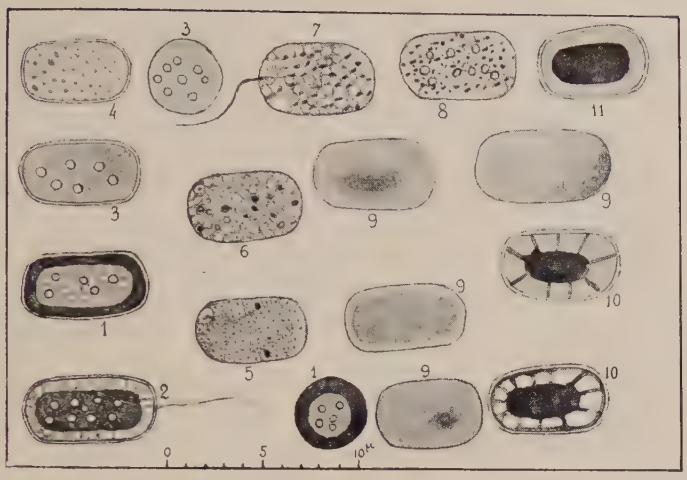
Fig. 7. — Id. Spore.

Fig. 8-10. — Id. Bacilles colorés par différentes méthodes (aspect identique). Les figures 8, 9 et 10 représentent des cellules jeunes contenant des corpuscules métachromatiques.

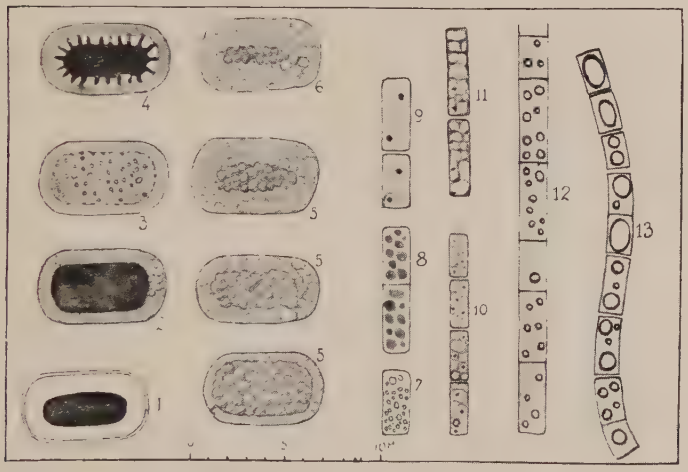
Fig. 11, 12. — Id. Cellules ayant 8-10 h. de développement.

Fig. 13, 14, 15. — Id. Après 16 h. de développement; grossissement de l'ébauche de la spore.

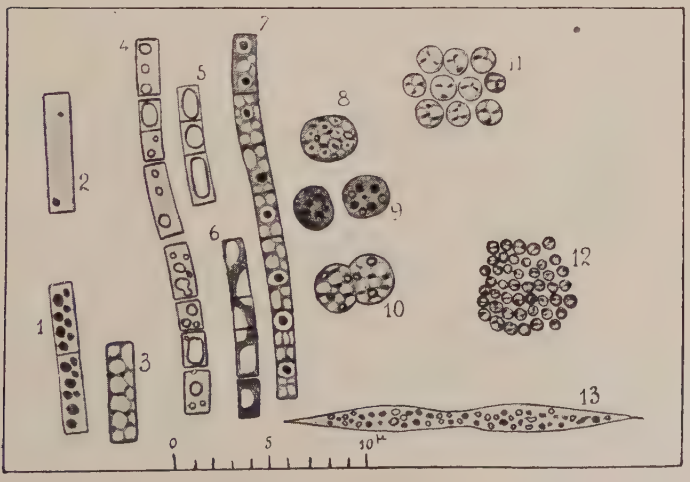
Fig. 16 à 20 .— Id. Achèvement de la spore.



1

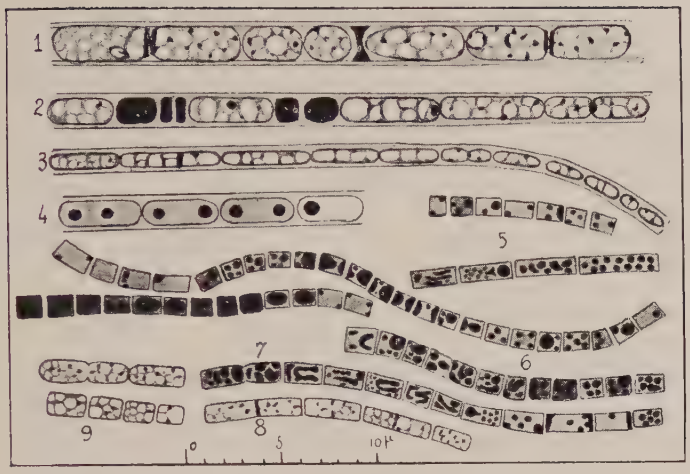


2

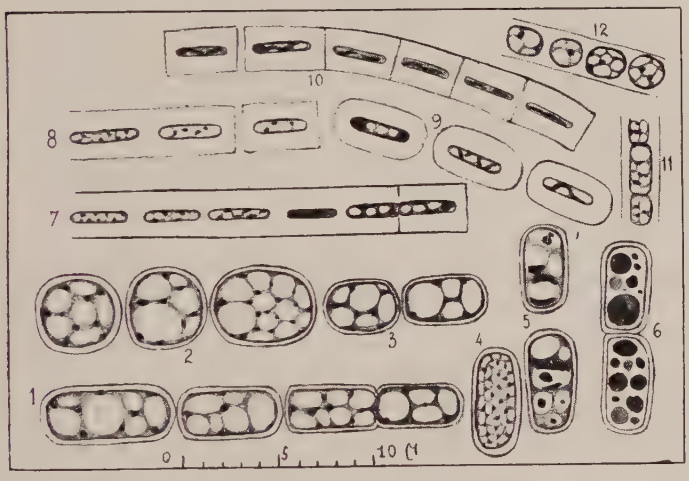


3

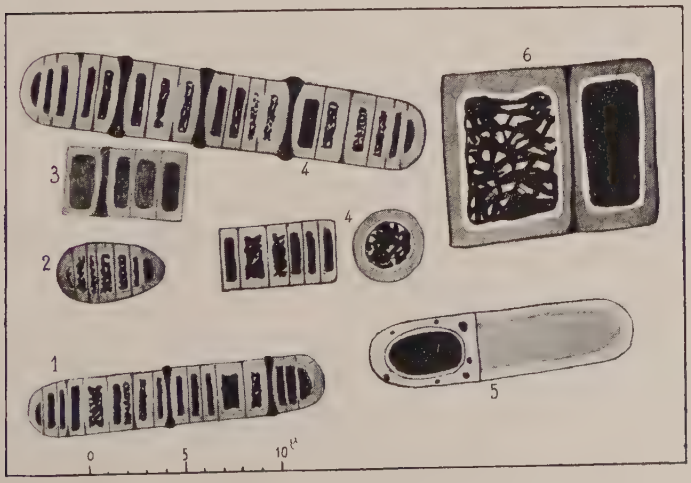
Sulfuraires



4

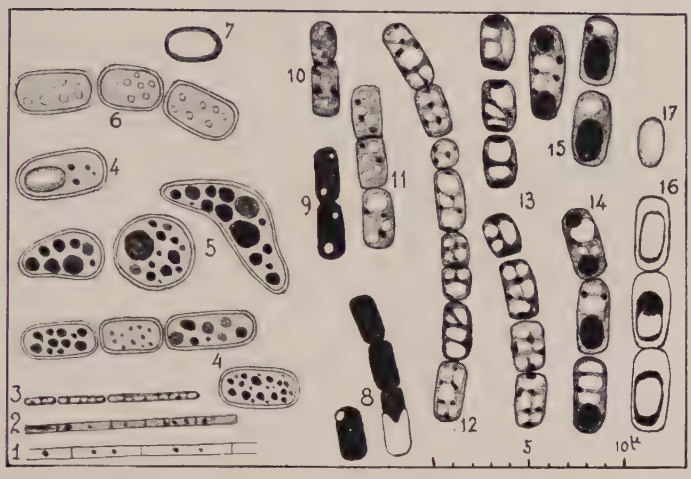


5



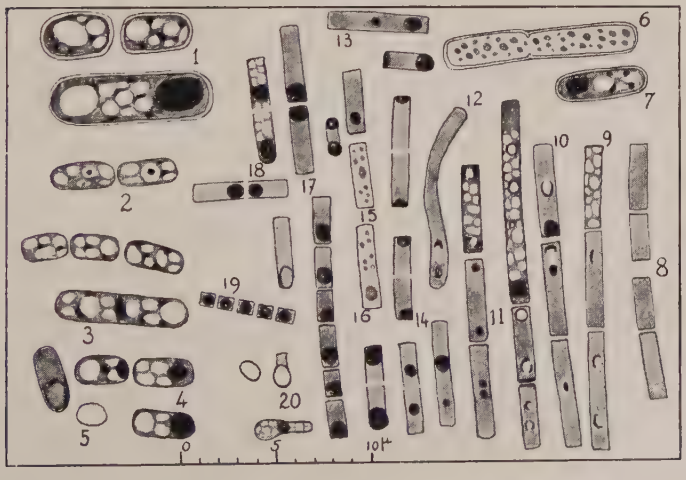
6

Diverses bactéries filamenteuses ; *Oscillospira Guilliermondi*



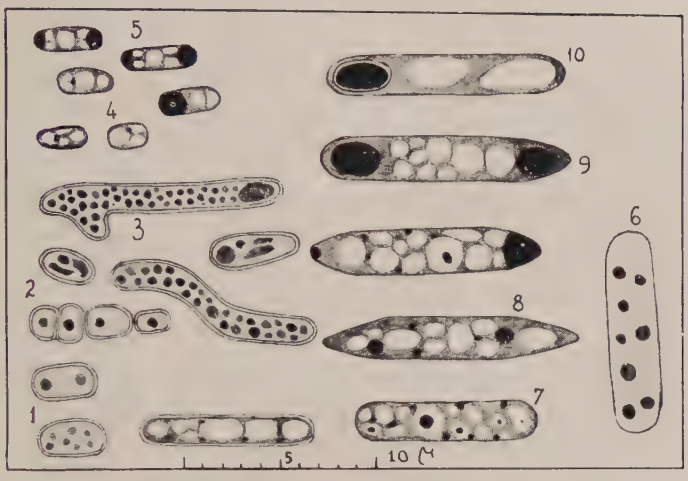
7

8

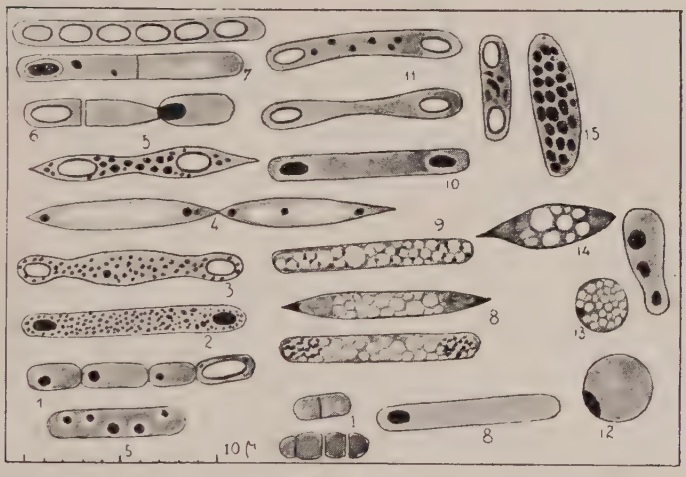


9

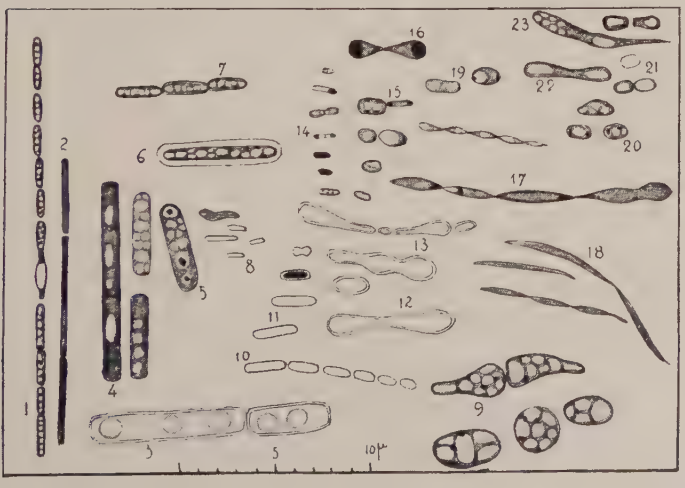
Bacilles endosporés et asporés



10

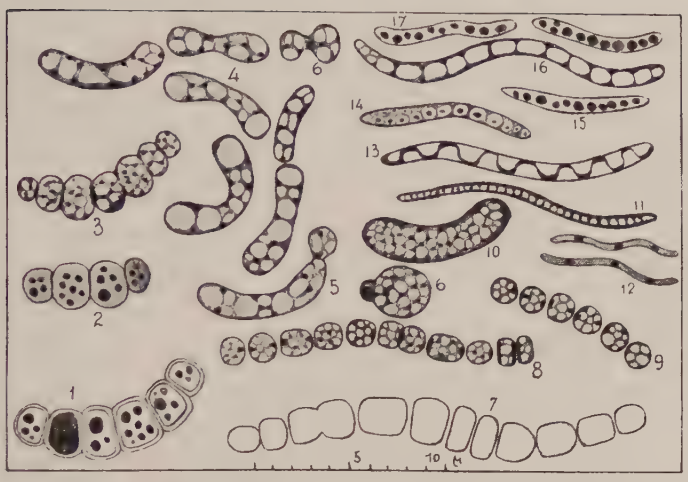


11

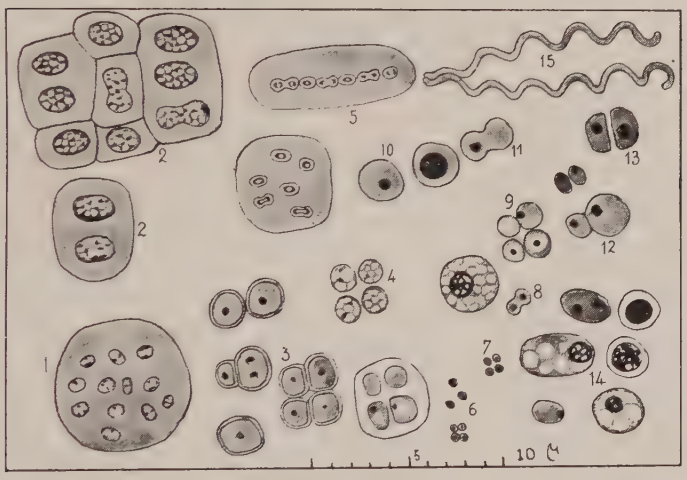


12

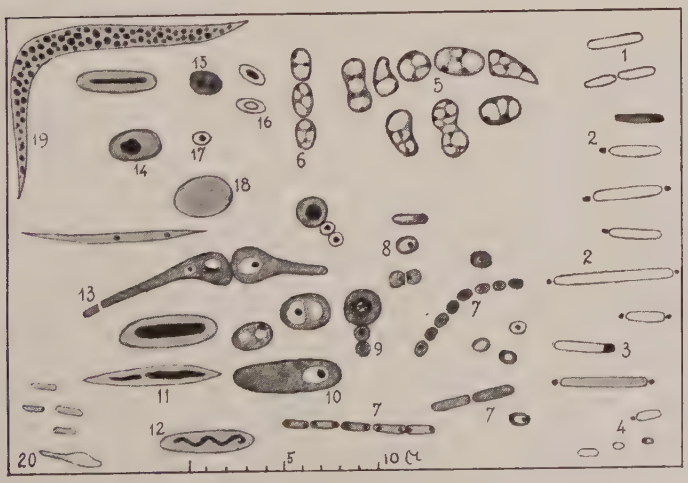
Bacilles divers ; bacille à deux spores



13

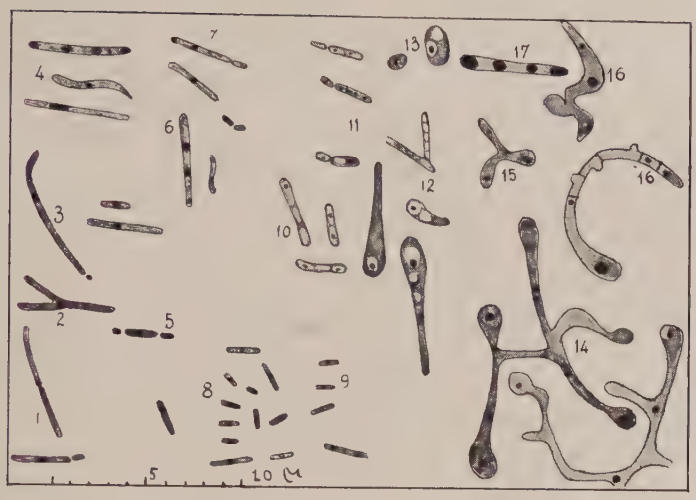


14

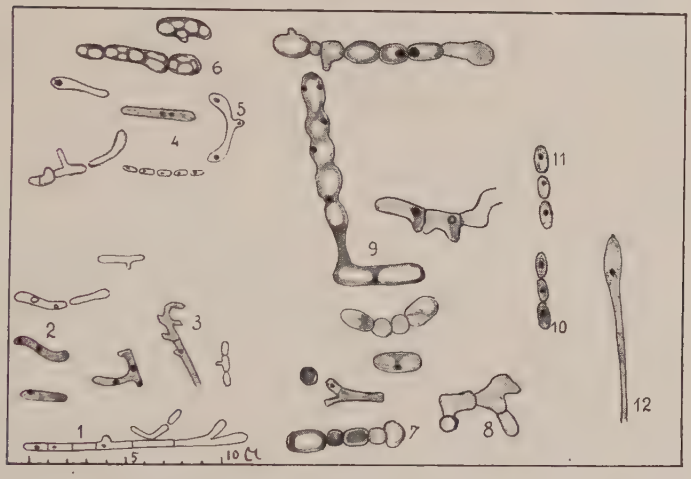


15

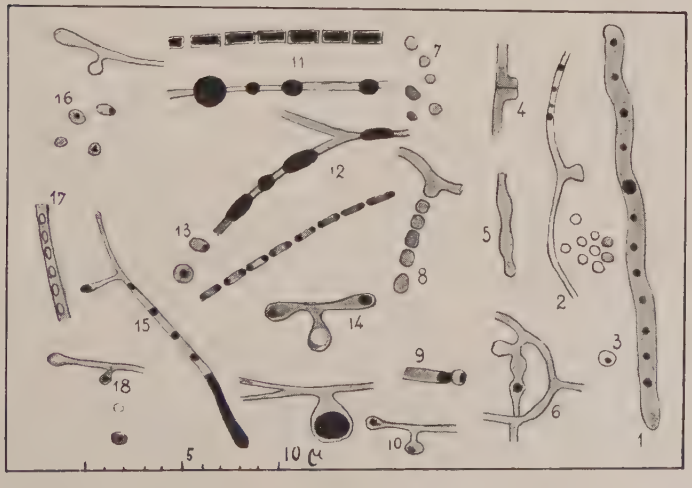
Formes rondes et cocco-bacillaires ; Bacille dysentérique ; un spirochète



16

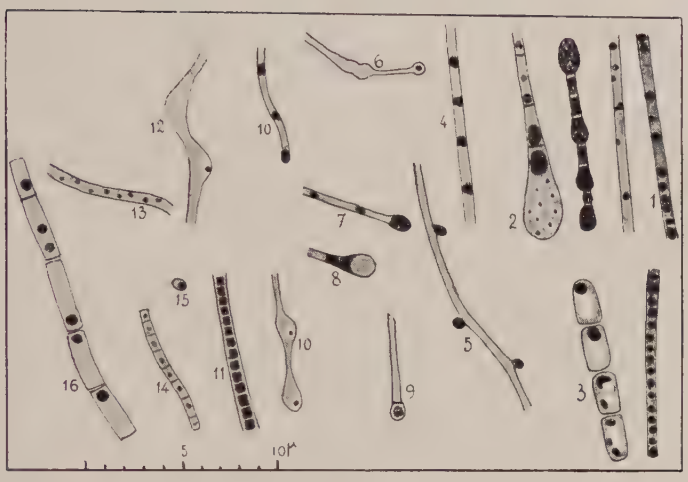


17

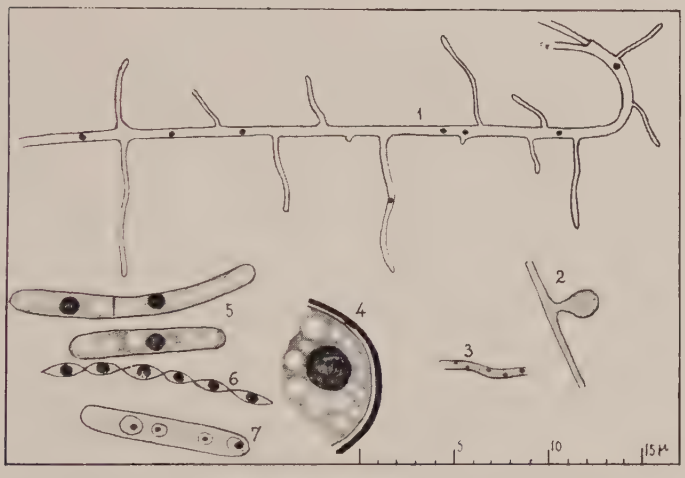


18

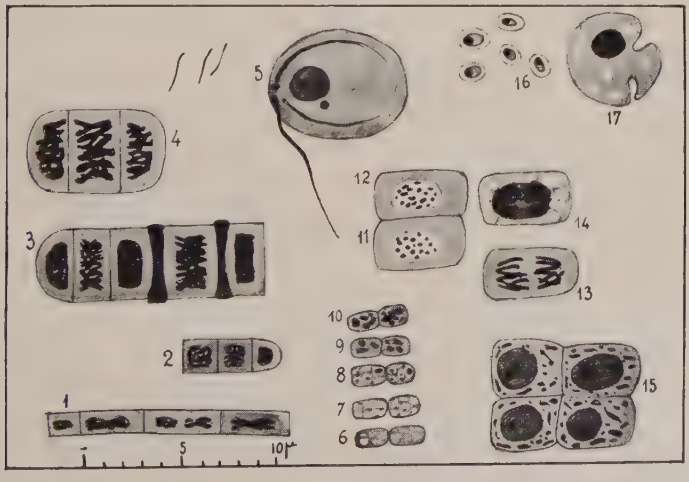
Bacilles tuberculeux et paratuberculeux ; Bacille diphtérique ; plusieurs *Actinomyces*



19



20



21

Actinomyces ; matériel de comparaison

Planche IV

Tableau 10

Fig. 1. — Bacille C, isolé d'une pomme de terre nécrosée, coloré vitalement au « nadi »; on aperçoit les enclaves de nature graisseuse.

Fig. 2 et 3. — Id. Formes d'involution observées dans les mêmes conditions.

Fig. 4. — Id. Fixation au liquide de Bouin, coloration à l'hématoxyline.

Fig. 5. — Id. Granules graisseux osmio-réducteurs.

Fig. 6. — Bacille fusiforme E, trouvé dans cæcum de cobaye; coloration au bleu de crésyl; fixation au formol; corpuscules métachromatiques.

Fig. 7-10. — Id. Sporogenèse (coloration à l'hématoxyline ferrique ou au vert Janus).

Tableau 11. — *Bacille D, trouvé dans l'intestin de crapaud*

Fig. 1. — Coloration post-vitale au bleu de crésyl; corpuscules métachromatiques.

Fig. 2-7. — Coloration au bleu de toluidine; granulations chromatiques et métachromatiques; sporulation.

Fig. 8 et 9. — Cellules jeunes colorées à l'hématoxyline; granulations sidérophiles.

Fig. 10, 11. — Sporogenèse; coloration à l'hématoxyline.

Fig. 12-15. — Fixations diverses de formes d'involution; coloration à l'hématoxyline; précipités intra-vacuolaires très chromophiles.

Tableau 12

Fig. 1. — Bacille endosporé (fixation au liquide de Lenhossek, coloration à l'hématoxyline).

Fig. 2. — Id. Cellules jeunes.

Fig. 3. — Bacille lactique; cellules vues *in vivo*. On distingue à l'intérieur des cellules de gros globules de graisse.

Fig. 4. — Individus de la même espèce, fixés, puis teintés à l'hématoxyline.

Fig. 5. — Id. Coloration des corpuscules métachromatiques au bleu de crésyl.

Fig. 6-7. — Bacille E, trouvé dans l'intestin de *Platydactylus mauritanicus*, coloré à l'hématoxyline.

Fig. 8. — Bacille pyocyanique.

Fig. 9. — Formes d'involution du *Bacillus subtilis*, fixées et colorées; granulations chromatiques.

Fig. 10, 11. — Chaînette du Bacille F, vue sur le vivant.

Fig. 12-13. — Formes d'involution.

Fig. 14. — Id. Jeunes individus fixés et colorés. Parfois le cytoplasme est surtout localisé aux pôles des cellules.

Fig. 15-19. — Id. Formes d'involution colorées à l'hématoxyline après diverses fixations.

Fig. 18. — Formes d'involution du Bacille dysentérique (type Schiga).

Fig. 20. — Bacille pesteux coloré à la thionine ou à l'hématoxyline.

Fig. 21-23. — Id. Coloration par la méthode de Giemsa.

Planche V

Tableau 13

Fig. 1. — *Streptocoque* E, trouvé dans le cœcum de cobaye, examiné postvitalement dans le lugol; le glycogène est très abondant.

Fig. 2. — Id. Fixation au formol, coloration au bleu de toluidine; granulations de métachromatine.

Fig. 3. — Id. Coloration à l'hématoxyline ferrique; granulations chromatiques.

Fig. 4. — Vibrion B, trouvé dans l'eau courante, coloré à l'hématoxyline; granulations chromatiques.

Fig. 5. — Id. Division inégale.

Fig. 6. — Id. Formes d'involution.

Fig. 7. — Streptocoque D, vu sur le vivant.

Fig. 8, 9. — Id. Nombreuses fixations; coloration à l'hématoxyline ferrique; granulations sidérophiles et cloisons transversales.

Fig. 10. — Vibrion A, trouvé dans le cæcum de cobaye, fixé au liquide de Perenyi, coloré à l'hématoxyline ferrique; granulations sidérophiles.

Fig. 11. — Spirille D, trouvé dans l'eau courante (fixation au liquide de Perenyi, coloration à l'hématoxyline); granulations chromatiques.

Fig. 12. — Spirille E, trouvé dans l'intestin de crapaud; fixation au liquide de Lenhossek, coloration à l'hématoxyline; les corpuscules métachromatiques sont colorés.

Fig. 13. — Spirille C. Cytoplasme non différencié; dessin schématique.

Fig. 14. — Id. Fixation au formol, coloration au bleu de crésyl; précipités de volutine.

Fig. 15. — Id. Corps cellulaire teinté par le lugol; granules de glycogène.

Fig. 16. — Id. Diverses fixations; coloration à l'hématoxyline ferrique; granulations chromatiques.

Fig. 17. — Id. Aspect des cellules colorées vitalement au « nadi ».

Tableau 14

Fig. 1. — Cocco-bacille H, trouvé dans de l'eau courante; fixation au liquide de Lenhossek; coloration à l'hématoxyline ferrique; granulations chromatiques.

Fig. 2. — Cocco-bacille I, trouvé dans les mêmes conditions; même structure.

Fig. 3. — *Coccus* B, trouvé dans l'intestin de *Platydactylus mauritanicus;*

coloration post-vitale au bleu de toluidine; un seul corpuscule métachromatique par cellule.

Fig. 4. — Id. Cellules fixées et colorées avec diverses méthodes, notamment à l'hématoxyline, la safranine.

Fig. 5. — *Leuconostoc mesenteroïdes*, fixé au liquide de Bouin, coloré à l'hématoxyline-érythrosine; le cytoplasme est localisé au pôle comme chez les Pasteurelles.

Fig. 6. — Sarcine A, fixée au formol, colorée au bleu de toluidine; chaque cellule a une vacuole contenant un précipité de métachromatine.

Fig. 7. — Id. Fixation au liquide de Lenhossek ou au liquide de Bouin; coloration des corpuscules métachromatiques par l'hématoxyline.

Fig. 8, 9, 12, 13. — Id. Formes d'involution, colorées au bleu de toluidine, après fixation au formol.

Fig. 14. — Id. Coloration des corpuscules métachromatiques par l'hématoxyline.

Fig. 15. — Spirochète F; structure homogène.

Tableau 15

Fig. 1. — Bacille G, fixé et coloré suivant différents procédés Structure homogène.

Fig. 2 et 3. — Id. Divisions inégales.

Fig. 4. — Id. Naissance d'un Bacille normal aux dépens d'un Bacille court.

Fig. 5. — Cocco-bacille J. Fixation au liquide de Lenhossek, coloration à l'hématoxyline; granulations sidérophiles.

Fig. 6. — Cocco-bacille K. Fixation au sublimé alcooolique; coloration à l'hématoxyline; granulations chromatiques.

Fig. 7. — *Bacillus aceti;* chaîne de Cocco-bacilles, colorés, soit à l'hémalun, soit à l'hématoxyline, soit vitalement au bleu de toluidine; chaque cellule contient un corpuscule métachromatique.

Fig. 8-13. — Id. Formes d'involution colorées à l'hématoxyline.

Fig. 14-19. — Id. Coloration au bleu de toluidine; la volutine condensée a parfois l'aspect d'un noyau.

Planche VI

Tableau 16

Fig. 1. — Bacille tuberculeux humain fixé au liquide de Lenhossek et coloré à l'hématoxyline; un seul corpuscule métachromatique par cellule.

Fig. 2. — Id. Fixation à l'acide osmique, coloration à la safranine; on note la présence d'un seul corpuscule métachromatique, dans chaque cellule, ayant l'aspect d'un noyau.

Fig. 3. — Id. Cellule fixée au liquide de Lenhossek, coloration au bleu de toluidine.

Fig. 4. — Id. Fixation au formol, coloration au bleu de toluidine; nombreux corpuscules métachrmatiques.

Fig. 5, 6, 7. — Fixation au liquide de Regaud, coloration au vert Janus; des corpuscules métachromatiques.

Fig. 8. — Bacille para-tuberculeux humain, fixé au liquide de Lenhossek, coloré à l'hématoxyline ferrique; un corpuscule central dans chaque cellule.

Fig. 9. — Id. Fixation au formol, coloration aux bleus d'aniline; (un ou deux corpuscules métachromatiques dans chaque cellule).

Fig. 10. — Bacille diphtérique long, coloré post-vitalement au moyen du bleu de Nil; corpuscules métachromatiques.

Fig. 11. — Id. Cellules colorées à l'hématoxyline (nombreuses fixations); les corpuscules métachromatiques sont colorés.

Fg. 12, 13. — Id. Formes d'involution colorées suivant plusieurs méthodes.

Fig. 14-17. — Formes d'involution de l'*Actinomyces bovis* cultivé sur bouillon glycériné. Fixation au formol, coloration au bleu de toluidine; les granulations chromophiles sont exclusivement formées par des précipités de métachromatine.

Tableau 17

Fig. 1. — *Actinomyces* B, vu sur le vivant. Filaments mycéliens, cloisonnés et ramifiés (coloration vitale au bleu de Nil).

Fig. 2, 3. — Id. Coloration post-vitale au bleu de Nil.

Fig. 4, 5, 6. — Id. Fixation au formol, coloration au bleu de toluidine (la figure 6 a été agrandie deux fois).

Fig. 7. — *Cladothrix asteroïdes*. Coloration post-vitale au bleu de Nil.

Fig. 8, 9. — Id. Fixation au formol. Coloration au bleu de toluidine. Les figures 7-9 ont été agrandies au double de l'échelle.

Fig. 10 et 11. — Fixation au liquide de Perenyi, coloration à la méthode de Giemsa.

Fig. 12. — *Streptothrix maduræ* (formol — bleu de toluidine).

Tableau 18. — *Actinomyces N° 61*

Fig. 1. — Gros filament coloré post-vitalement au bleu de Nil; corpuscules métachromatiques.

Fig. 2. — Petit filament, conidies; coloration post-vitale.

Fig. 3. — Conidies et le noyau (?); fixation au liquide de Perenyi, coloration par la méthode de Giemsa.

Fig. 4 à 9, 13, 15, 16, 18. — Fixation au liquide de Perenyi, coloration par la méthode de Giemsa.

Fig. 10. — Fixation au liquide de Flemming, coloration à l'hématoxyline.

Fig. 11. — Fixation au formol, coloration au bleu de toluidine; très nombreux corpuscules métachromatiques.

Fig. 12. — Coloration post-vitale au moyen du bleu de Nil.

Planche VII

Tableau 19

Fig. 1, 2. — *Actinomyces hominis* (Nieve). Filaments fixés au formol et colorés au bleu de toluidine; les corpuscules métachromatiques sont parfois très volumineux.

Fig. 3. — Id. Filament dessiné à une échelle double des autres figures; on voit des précipités de métachromatine.

Fig. 4, 5, 6, 7, 8. — *Actinomyces n° 1;* filaments colorés par la méthode de Giemsa, après fixation au liquide de Perenyi; corps existant dans le filament et la spore et ressemblant à un noyau.

Fig. 10 et 11. — Id. Fixation au liquide de Flemming; coloration à l'hématoxyline ferrique; corpuscules métachromatiques.

Fig. 12-15. — Fixation au liquide de Perenyi, coloration à l'hématoxyline ferrique; conidies et noyaux (?).

Fig. 16. — *Actinomyces* trouvé dans l'eau (fixation au liquide Lenhossek, coloration à l'hématoxyline).

Tableau 20

Fig. 1. — *Discomyces* A. Coloration post-vitale au bleu de Nil (noyau).

Fig. 2-3. — Id. Fixation au liquide de Perenyi, coloration à l'hématoxyline ferrique.

Fig. 4. — Chlamydospore de *Tilletia levis* Kühn; fixation au liquide de Regaud, coloration au vert Janus; membrane, cytoplasme et noyau avec le nucléole.

Fig. 5, 6. — Fixation au liquide de Bouin, coloration à l'hémalun; promycelium d'*Ustilago Sorghi;* on distingue les noyaux.

Fig. 7. — Promycelium d'*Ustilago Sorghi*, coloré vitalement en bleu de crésyl; corpuscules métachromatiques.

Tableau 21

Fig. 1. — Trichome d'une Cyanophycée appartenant au genre *Phormidium*, fixé au liquide de Lenhossek et coloré à l'hémalun. Le corps central est vivement coloré.

Fig. 2-4. — Trichome appartenant au genre *Oscillatoria* (fixation au liquide de Lenhossek, coloration à l'hématoxyline ferrique).

Fig. 5. — Flagellé trouvé dans l'intestin de cobaye; noyau, flagelle avec blépharoplaste, rhizoplaste (coloration à l'hématoxyline).

Fig. 6-10. — Bacille coloré au liquide de Giemsa.

Fig. 11, 12. — Début de la prophase dans des cellules du méristème de racine de *Triticum vulgare;* fixation au liquide de Regaud, coloration au vert Janus.

Fig. 12-14. — Id. Télophase (on n'a pas dessiné tous les chromosomes).

Fig. 15. — Chondriome et noyau (avec nucléole) des cellules de foie de Triton (fixation au liquide de Regaud, coloration à l'hématoxyline ferrique).

Fig. 16. — Spore de Microsporidie trouvée dans le sang de *Bombyx mori;* fixation au liquide de Lenhossek, coloration à l'hératoxiline ferrique (cliché peu net).

Fig. 17. — Noyau d'Amibe coloré à l'hématoxyline.